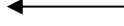


Adınızı soyadınızı giriniz

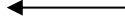


Tez kabul edildikten sonra eğer basılacak ise yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak

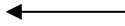
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya (sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, **YÜKSEK LİSANS TEZİ**;
Doktora ise **DOKTORA TEZİ** ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız



İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BEDAKULİN'İN TÜBERKÜLOZ DIŞI
MİKROBakterilere Karşı İn Vitro Etkinliğinin
Araştırılması

NAZLI ECE ÖZÇATALKAYA

DANIŞMAN
PROF. DR. DİLEK ŞATANA

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İSTANBUL-2023

İTHAF

Özçatalkaya ailesine ithafen...

TEŞEKKÜR

Tüm çalışmam boyunca hiçbir sorumu yanıtsız bırakmayan, gerek bilimsel gerek manevi anlamda desteğini üzerimden esirgemeyen değerli danışmanım Prof. Dr. Dilek ŞATANA'ya çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım başta İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ali AĞAÇFİDAN olmak üzere, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Betigül ÖNGEN, Prof. Dr. Meltem UZUN, Prof. Dr. Zayre ERTURAN, Prof. Dr. Özden BÜYÜKBABA BORAL, Prof. Dr. Zerrin AKTAŞ, Prof. Dr. Gülseren AKTAŞ, Doç. Dr. Yaşar NAKİPOĞLU, Doç. Dr. Lütfiye ÖKSÜZ, Doç. Dr. Hayriye KIRKOYUN UYSAL, Doç. Dr. Sevim MEŞE, Doç. Dr. Gonca ERKÖSE GENÇ ve Dr. Öğr. Üyesi Mustafa ÖNEL'e teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Görkem YAMAN'a, tüm çalışmam süresinde laboratuvarında yanımda olan, çalışma arkadaşım Seda TÜRKKAL'a, her anımda yanımda olan, can dostum, sırdaşım Embriyolog Büşra BERKSOY'a, en büyük destekçilerim, her zaman yanımda olan sevgili annem, babam ve ablama teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 38096

Nazlı Ece ÖZÇATALKAYA

İÇİNDEKİLER

BEYAN	ii
ITHAF	iii
TEŞEKKÜR	iv
TABLolar LISTESİ	vii
ŞEKİLLER LISTESİ	viii
SEMBOLLER / KISALTMALAR LISTESİ	viii
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tüberküloz Nedir?	2
2.2. Mikobakteriler	2
2.2.1. Mikobakterilerin Sınıflandırılması	2
2.2.2. Mikobakterilerin Genel Özellikleri	3
2.2.3. Virulans Faktörleri ve Patogenez	5
2.2.3.1. Virulans Faktörleri	5
2.2.3.2. Patogenez	8
2.3. Tüberküloz Dışı Mikobakteriler	11
2.3.1. Tüberküloz Dışı Mikobakterilerin Sınıflandırılması	12
2.3.2. Tüberküloz Dışı Mikobakterilerde Virulans	13
2.4. Tanı Yöntemleri	15
2.4.1. Laboratuvar Tanısı ve İdentifikasyonu	15
2.4.1.1. Mikroskopi	16
2.4.1.2. Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri (NAAT)- Moleküler Yöntemler	16
2.4.1.3. Kültür ve İdentifikasyon	18
2.5. Tedavi Yöntemleri	21
2.5.1. Tüberküloz Dışı Mikobakterilerin Tedavisi	23
2.6. Epidemiyoloji	24

2.6.1. Dünya’da Tüberküloz Durumu	24
2.6.2. Dünya’da Tüberküloz Dışı Mikobakteriler	26
2.6.3. Türkiye’de Tüberkülozun Durumu	27
2.7. Tüberküloz Dışı Mikobakterilerde Antimikrobiyal Direnç	29
2.7.1. Mikrodilüsyon	29
2.7.2. Agar Disk Elüsyonu	29
2.7.3. Agar Disk Difüzyonu	30
2.7.4. E-test	30
2.8. Dirençli Suşlara Karşı Geliştirilmekte Olan İlaçlar	30
2.9. Bedakulin	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1. Kullanılan Malzemeler	35
3.1.1. Middlebrook 7H9 Broth Besiyeri	35
3.1.2. Katyon Ayarlı Mueller Hinton Broth Besiyeri	36
3.1.3. Resazurin Sodyum Tuzu (%0.02)	36
3.1.4. İlaçların Hazırlanışı	37
3.2. Mikrodilüsyon Yöntemi	38
4. BULGULAR	40
5. TARTIŞMA	45
6. KAYNAKLAR	49

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Mikobakterilerin sınıflandırılması.....	3
Tablo 2.2. MTB için önemli olan bazı virulans faktörleri ve genleri.....	6
Tablo 2.3. Tüberküloz Dışı Mikobakterilerin Sınıflandırılması.....	12
Tablo 2.4. Tüberküloz dışı mikobakterilerde virulans ve rol oynayan bazı genler..	13
Tablo 2.5. Tanıda kullanılan nükleik asit amplifikasyon temelli testler.....	17
Tablo 2.7. Geliştirilmekte olan antitüberküloz ilaçları.....	31
Tablo 4.1. TDM'lerin tür düzeyinde dağılımı.....	40
Tablo 4.2. Bedakulin'in 58 Hızlı üreyen ve 45 Yavaş üreyen Tüberküloz Dışı Mikobakteri'ye karşı MİK değerleri.....	42
Tablo 4.3. TDM'lerin bedakuline karşı gösterdiği duyarlılık oranları.....	43
Tablo 4.4. Bedakulin'in TDM'ye karşı MİK 50 ve MİK 90 değerleri.....	44

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. <i>M. tuberculosis</i> hücre duvar yapısı	4
Şekil 2.2. Tüberküloz patogenezi	10
Şekil 2.3. 2016-2020 yılları arasında Dünya çapında tüberküloz tanısı konan bireylerin bildirimi.	24
Şekil 2.4. En az 100 000 vaka barındıran ülkeler için tahmini 2020 TB insidansı	25
Şekil 2.5. Dünya’da Çoğul İlaç Direçli/ Rifampisin dirençli TB (ÇİD/RR-TB) tanısı ve bildirimi	26
Şekil 2.6. Türkiye’de 2005-2018 yılları arasında TB insidansı	28
Şekil 2.7. Türkiye’de raporlanan yeni vaka sayısı ve rifampisin dirençli yeni vaka yüzdesi	28
Şekil 2.8. Bedakulinin etki mekanizmasının şematik gösterimi	34
Şekil 3.1. Bedakulin’in <i>in vitro</i> aktivitesinin test edilmesi için pleyt düzeni	39

SEMBOLLER / KISALTMALAR LISTESİ

TDM:	Tüberküloz Dışı Mikobakteri
TB:	Tüberküloz
MTB/MTBC:	<i>Mycobacterium tuberculosis/ Mycobacterium tuberculosis</i> kompleks
MIK/MIC:	Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu
DSÖ/WHO:	Dünya Sağlık Örgütü
LAM:	Lipoarabinomannan
LM:	Lipomannan
ROS:	Reaktif Oksijen Türleri
RNA:	Ribonükleik Asit
DNA:	Deoksiribonükleik Asit
TDT:	Tüberkülin Deri Testi
PPD:	Purified Protein Derivatives
IGRA:	İnterferon Gama Salınım Testi
BCG:	Bacillus Calmette Guerin
pH:	Power of Hydrogen
°C:	Santigrat Celcius
µg/µl:	Mikrogran/Mikrolitre
mL:	Mililitre
ELISA:	Enzim Bağlı İmmünosorbent Assay
HRCT:	Yüksek Çözünürlüklü Bilgisayarlı Tomografi
HPLC:	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
PCR:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
AFB:	Asit Dirençli Basil
CLSI:	Clinical and Laboratory Standards Institute
EUCAST:	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
NAAT:	Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri
LJ:	Löwenstein Jenssen
MALDI:	Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyonu
ÇİD:	Çoğul İlaç Direnci
ATP:	Adenozin Trifosfat
BDQ:	Bedakulin
OADC:	Oleic Albumin Dextrose Catalase
CAMHB:	Kasyon Ayarlı Mueller Hinton Broth
DMSO:	Dimetil Sülfoksit
ATS-IDSA:	Amerikan Toraks Cemiyeti/

ÖZET

Özçataalkaya, N.E.. Bedakulin'in Tüberküloz Dışı Mikobakterilere Karşı *in vitro* Etkinliğinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2023.

Tüberküloz dışı mikobakteri kaynaklı enfeksiyonlar Dünya çapında günden güne artış göstermektedir. Tedavi edilebilir bir hastalık olmasına karşın çoklu ilaç kullanımı, doğal veya kazanılmış direnç, *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi ile ayrımının doğru yapılamaması gibi nedenlerden dolayı tedavi rejimleri uzun sürebilmekte ve bazen başarısızlıkla sonuçlanabilmektedir. Bu sorunlar neticesinde karşılaşılabilecek direnç nedeniyle yeni ilaçların keşfedilmesi son derece önem taşımaktadır. Andries ve arkadaşlarının 2005 yılında keşfettikleri bedakulinin, çoğul ilaç dirençli *M. tuberculosis* ve tüberküloz dışı mikobakteri suşlarında etkili olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Çalışmamızda ülkemizde henüz kullanıma girmemiş olan bedakulinin İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikobakteriyoloji laboratuvarına ve İstanbul Düzen Laboratuvarı'na rutin inceleme amacıyla gönderilmiş örneklerden izole edilen tüberküloz dışı mikobakteri suşlarına etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya 14 farklı türdeki 58 hızlı ve 45 yavaş suş dahil edilmiştir. Mikrodilüsyon yöntemi ile bedakulinin MİK aralığı 0.008-16 µg/ml olarak kılavuzlarda belirtildiği şekliyle uygulanmıştır. Yavaş üreyen suşların tamamının bedakuline duyarlı olduğu (MİK <0.008 µg/ml) saptanmıştır. Hızlı üreyen suşların 16'sının ise dirençli (MİK > 0.25 µg/ml) olduğu belirlenmiş, dirençli suşların yedisinin *M. fortuitum*, beşinin *M. abscessus*, üçünün *M. chelonae* ve birinin *M. elephantis* olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak bedakulinin tüberküloz dışı mikobakteri suşlarına karşı oldukça yüksek aktivitesi olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bedakulin, Tüberküloz, Tüberküloz Dış Mikobakteri, Mikrodilüsyon, Antitüberküloz Duyarlılık Testi

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 38096

ABSTRACT

Ozcatalkaya, N.E.. Research of *In vitro* Activity of Bedaquiline in Nontuberculous Mycobacteria, İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Medical Microbiology. Master's Thesis. İstanbul. 2023.

The incidence of Nontuberculous mycobacteria related infections has been rise in all over the world. Despite being a treatable disease, treatment regimens can be prolonged and sometimes result in failure due to the use of multiple drugs, natural or acquired resistance, and the inability to differentiate from the *Mycobacterium tuberculosis* complex. Due to the potential for resistance that may be encountered thus, discovery of new drugs are highly important. Bedaquiline has been discovered by Andries and his team in 2005, and is promising drug to be used with the cases of multiple drug resistant *M. tuberculosis* and nontuberculous mycobacterial infections. In our study, it was aimed to investigate the effect of bedaquiline, which has not yet been introduced in our country, on non-tuberculous mycobacterial strains isolated from samples sent for routine examination to the İstanbul University, İstanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Mycobacteriology laboratory and İstanbul Duzen Laboratory. The study included 58 rapid and 45 slow strains from 14 different species. The microdilution method was applied with a MIC range of 0.008-16 µg/ml, as stated in the guidelines. It was determined that all slow-growing strains may be sensitive to bedaquiline (MIC \leq 0.25µg/ml), while 16 of the rapid-growing strains may be resistant (MIC $>$ 0.25µg/ml). Of the potentially resistant strains, seven were identified as *M. fortuitum*, five as *M. abscessus*, three as *M. chelonae*, and one as *M. elephantis*. In conclusion, it was observed that bedaquiline has a high activity against non-tuberculous mycobacterial strains.

Key Words: Bedaquiline, Tuberculosis, Nontuberculous Mycobacteria, Microdilution, Antimicrobial Susceptibility Testing

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No: 38096

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tüberküloz dışı mikobakteriler (TDM) çok çeşitli ortamlarda yaşayabilen mikroorganizmalardır. Yapılan araştırmalar ve bildirilen olgular, TDM kaynaklı enfeksiyonların günden güne artmakta olduğunu göstermektedir [1,2].

TDM'ler, *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi suşlarından (MTBC) farklı olarak çeşitli ekosistemlerde yaşamlarını sürdürebilmekte ve doğal ya da kazanılmış ilaç direnci gösterebilmektedir [3]. Mikobakteri enfeksiyonlarının tedavisi uzun süreli ve çoklu kombine ilaç kullanımını gerektirmekte, MTBC'nin etken olduğu enfeksiyonların tedavi protokolü ile TDM bakteri enfeksiyonlarının tedavi protokolleri birbirinden farklı olması nedeniyle, TDM ve *M. tuberculosis* kompleksi ayrımının yapılması önem taşımaktadır. Tür tayini yapılmadığı takdirde, TDM'lerle enfekte hastalarda tedavi başarısızlığı ortaya çıkmakta, bu durum hem hastaya faydası olmayan ilaçların gereksiz yere kullanılmasına hem de hastanede kalış süresinin uzamasından dolayı önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır [4,5].

TDM suşlarının göstermiş olduğu direnç nedeniyle farklı ilaçların keşfedilmesi son derece önemlidir. Andries ve arkadaşlarının 2005 yılında keşfettiği ve "Sirturo" ticari adıyla piyasada yerini alan "Bedaquin", diğer antitüberküloz ilaçlarıyla karşılaştırıldığında farklı bir mekanizma ile etkisini göstermektedir. Mikobakteriyel ATP sentezinin inhibisyonu yoluyla etki gösteren bedakulin, ilk olarak dirençli MTBC suşlarına karşı umut verici bir ilaç olarak kullanılmıştır. Bedakulinin, doğal ve kazanılmış dirence sahip TDM'ler üzerindeki etkinliğinin varlığı da *in vitro* çalışmalarda gösterilmiştir [6,7].

Çalışmamızda ülkemizde henüz kullanıma girmemiş olan bedakulinin İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikobakteriyoloji laboratuvarına ve İstanbul Düzen Laboratuvarı'na rutin inceleme amacıyla gönderilmiş örneklerden izole edilen TDM suşlarına etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tüberküloz Nedir?

Tüberküloz (TB), *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) adı verilen bakterinin etken olduğu, çoğunlukla akciğerleri etkileyen, Dünya çapında ölümlere neden olan ve tedavi edilebilen bir hastalıktır [8]. Koronavirüs (COVID-19) pandemisine kadar TB'nin, tekli enfeksiyöz etken kaynaklı ölümler sıralamasında HIV-AIDS'den de daha üst sırada olduğu bildirilmektedir [9].

Tüberkülozun anlaşılması, 19. yüzyılın başlarında Fransız bir tıp doktoru olan Theophile Laennec'in çalışmaları sayesinde başlamıştır. Daha sonras 1865 yılında Fransız bir tıp doktoru olan Jean-Antoine Villemin *Mycobacterium tuberculosis* enfeksiyonunun bulaşıcılığını göstermiştir. Robert Koch ise 1882 yılında , tüberkülozun etiyolojik ajanının tüberkül basili olduğunu belirtmiş ve bu çalışması ile 1905 yılında Nobel Fizyoloji ve Tıp Ödülü'nü kazanmıştır [10].

2.2. Mikobakteriler

2.2.1. Mikobakterilerin Sınıflandırılması

Mycobacterium cinsi, Actinomycetales takımı içinde Mycobacteriaceae ailesi, içinde yer almaktadır (Tablo 2.1.) [11]. *Mycobacterium* cinsi içinde %99.9 DNA homolojisi ile *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. canettii*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. suricattae*, *M. mungi*, *M. orygis* ve *Dassie basilleri* *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi adı altında yer almaktadır. *Mycobacterium* cinsi içinde MTBC dışında tüberküloz dışı mikobakteri ve *M. lepra* türleri de yer almaktadır [12].

Tablo 2.1. Mikobakterilerin sınıflandırılması [11,12].

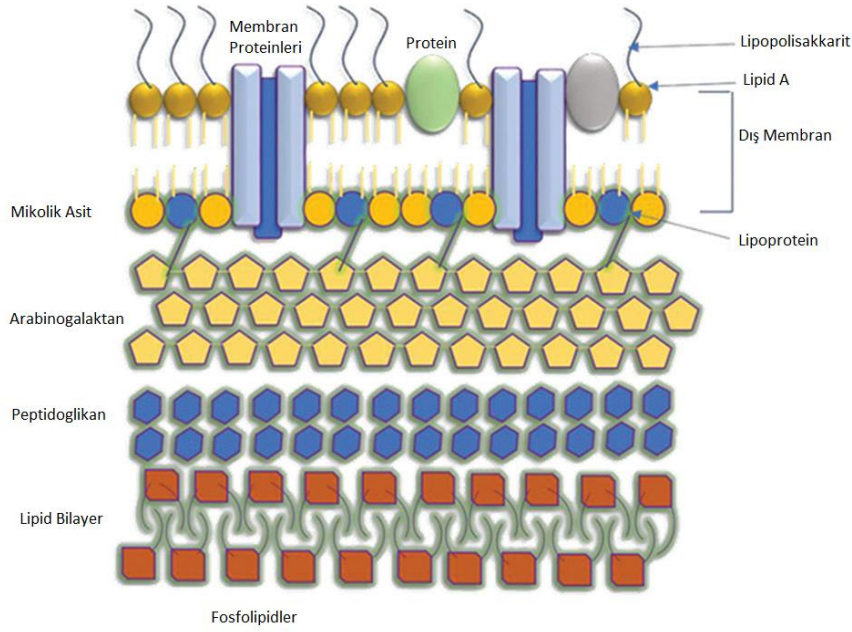
Domain	Bacteria
Phylum	Actinobacteria
Class	Actinobacteria
Order	Actinomycetales
Family	Mycobacteriaceae
Genus	Mycobacterium
Species	<i>M. tuberculosis</i> kompleksi TDM <i>M.leprae</i>

M. tuberculosis, tipik mikobakteri hücre duvar yapısına sahiptir. Bu özel hücre duvar yapısı sayesinde Gram negatif ya da Gram pozitif olarak sınıflandırılmaz. Ziehl-Neelsen olarak adlandırılan aside dirençli boyama tekniği ile boyandıkları zaman bakteriler asit alkolle dekolorizasyon işlemi ile yapıları içine aldıkları boyayı geri vermeyerek mavi zeminde kırmızı çomaklar şeklinde görünürler ve bu şekildeki görünüşleri ile aside dirençli olarak tanımlanırlar [13].

2.2.2. Mikobakterilerin Genel Özellikleri

M.tuberculosis, aerobik, spor oluşturmeyen ve hareketsiz bir basildir. Gram- pozitif gibi boyanmasına rağmen Gram- negatif bakteriler gibi hücre duvar yapısında ikincil bir dış membran barındırmaktadır. Bu membran yapısında uzun zincirli dallanmış yüksek molekül ağırlıklı lipidler ve mikolik asitler bulunur. Sitoplazmik membran dışındaki membran, arabinogalaktana bağlı peptidoglikan içeren bir yapı ile mikolik asitlere bağlanır (Şekil 2.1.) [14].

Antimikrobiyallere geçirgenliğin az olması gibi birçok önemli özelliğe ek olarak hücre duvarı lipoarabinomannan, sülfolipidler gibi immünmodülatör moleküller içermektedir. Virulansta önemli rol oynayan kord faktörü, *M. tuberculosis*'in sıvı kültürde uzun, yılan benzeri yapılar oluşturmasına yardımcı olmaktadır (Tablo 2.2.). Bu kompleks hücre duvar yapısı aynı zamanda birçok antitüberküloz ilacın da hedefi olarak yer almaktadır [14].



Şekil 2.1. *M. tuberculosis* hücre duvar yapısı [15]. *M. tuberculosis*'in lipid bakımından zengin hücre duvar yapısının gösterimi. Hücre duvarı peptidoglikan, arabinogalaktan, mikolik asit ve lipoarabinomannan içermektedir.

Hücre duvarında barındırdıkları yüksek lipid içeriği, bakteri hücre duvarına hidrofobik bir ortam oluşturur. Bu nedenle büyüme hızları diğer bakterilere göre yavaştır. Sahip oldukları hidrofobik bariyer nedeniyle kümeleşme eğilimi gösterirler ve bu da besinlerin hücre içerisine girişini zorlaştırır. Yaklaşık 15-20 saat sürebilen bölünme süreleri nedeniyle gözle görülebilir kolonilerin oluşumu 3-8 hafta sürebilmektedir [13].

Tüberküloz, hasta bireylerin hapsirme, tükürme, öksürme gibi refleksleriyle damlacık yoluyla insandan insana bulaşır. Aktif tüberküloz vakalarında semptomlar geç görülebilmektedir. Bu da tedaviye başlamada gecikme ve diğer insanlara bulaşın önemli bir nedenidir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), TB tedavi edilebilir ve hatta önlenebilir bir hastalık olduğundan, hasta bireylerin %85'inin 6 aylık ilaç tedavisi ile iyileşme gösterdiğini, ancak uygun tedavi almadıkları durumlarda TB pozitif- HIV negatif bireylerin %45'i ve TB pozitif -HIV pozitif bireylerin tamamına yakınının ise ölebileceğini belirtmektedir [8,9].

2.2.3. Virulans Faktörleri ve Patogenez

2.2.3.1. Virulans Faktörleri

Virulans, genellikle bir patojenin hastalık oluşturma yeteneği olarak tanımlanmaktadır. Mikobakteriler için virülans, konak hücrelerde varlığını koruma ve makrofajların antimikrobiyal aktivitelerine karşı koyabilme yetenekleri olarak tanımlanır [16].

M. tuberculosis, diğer bakterilerde olduğu gibi klasik virulans faktörlerine (toksinler vb.) sahip değildir. Buna karşın mikobakterilerde virulans ile ilişkili olduğu bilinen birçok gen tanımlanmıştır (Tablo 2.2.).

MTB virulansı genel olarak transmisyon ile ilişkilidir. Bu nedenle virulansını üç şekilde değerlendirmek mümkündür [16].

- 1- Bakterinin konak immün yanıt karşısında sağkalım yeteneği,
- 2- Akciğer hasarı oluşturma kapasitesi,
- 3- Yeni bir konağa başarılı bir şekilde geçiş.

Mikolik asitler, glikolipidler, lipomannan, lipoarabinomannan (LAM), sulfolipidler, trehalose-6,6'- dimikolat bileşenlerinin bol miktarda bulunduğu eşsiz hücre duvar yapısı sayesinde mikobakteri, konak hücre içerisinde oldukça avantajlıdır. Etken olan patojen, yağ asit metabolizmasını konak hücredeki koşullara göre düzenlemektedir. Ayrıca mikobakteri hücre duvarının lipid profilinin, konak immün yanıtlarını düzenleyebildiği, dendritik hücreler ve makrofajlar gibi fagositik hücreler, sitokin, inflamatuvar faktörlerin üretimini baskılayabilme ya da arttırabilme yeteneğinde olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır [15].

Tablo 2.2. MTB için önemli olan bazı virulans faktörleri ve genleri.

VİRULANS FAKTÖRLERİ	GÖREVİ
Lipidler	
<i>Lipoarabinomannan (LAM)</i>	*Bakteriyel tutunma ve makrofajlar tarafından fagositoz *Fagozom olgunlaşmasının ve fagolizozomal füzyonun inhibisyonu *IFN γ transkripsiyonunun engellenmesi, antioksidatif savunma ve protein kinaz C aktivitesinin inhibisyonu *Th1 sitokin ekspresyonunun downregulasyonu *IL-10 üretiminin artışı ve dendritik hücrelerin olgunlaşmasının engellenmesi [17]
<i>Lipomannan (LM)</i>	*IL-12 üretiminin artışı ve makrofajlarda apoptoz [17].
<i>Fosfatidilinositol mannositler(PIMs)</i>	*Granülom oluşumu ve korunumu. *Makrofajlarda TNF, IL12 üretiminin inhibisyonu [17].
<i>Trehalose-6,6'-dimikolat(TDM)</i>	*Kord faktörü olarak da bilinen TDM, mikobakteriyel hücre duvarında en çok bulunan toksik lipiddir [16]. *Fagolizozomun asidifikasyonunun engellenmesi, fagozomların geç olgunlaşması, fagolizozom füzyonu [17]. *Granülom oluşumu ve korunumu (Genellikle TNF α ve IL-6'nın arttırılmış üretimi ile ilişkilidir). *Mitokondriyal membran hasarı ve oksidatif fosforilasyon. *Apoptoza giriş ve timüs atrofsisi [17].
<i>Phthiocerol dimycocerosate (PDIM) ve phenolic glycolipids (PGL)</i>	*PDIM ve PGL, mikobakteriyel yüzeyine nonkovalent bağlı lipidlerdir. Majör virulans faktörleri arasında yer almaktadırlar. Akut fazda bakteriyel duplikasyon için gerekli olan moleküllerdir. PDIM, deterjanlara karşı mikobakteriyel direnç ve hücre duvarının kalınlığı ve geçirgenliği ile ilişkilidir [16]. *Hücre içi bakteriyel sağkalım (nitrojen ara ürünlere karşı bakteriyel koruma). *Makrofajlar tarafından fagositoz ve bakteriyel tutunma. *İmmünsüpresyon (pro inflamatuvar ürünlerin salınımı). *Fagozom membranının yırtılması ve devamında gelen apoptoz [17].
Lipoproteinler	*Moleküler taşıyım, hücre duvarı homeostasisi ve besin alımı ile ilişkilidir [16].
<i>LpqH</i>	*İmmün sistem tarafından tanınma, DC olgunlaşmasının tetiklenmesi, otofaji ve TLR-2 aktivasyonu [16].
<i>Mpt83</i>	*Konak hücre tutunması [16].
<i>LprG</i>	*P27 olarak da bilinir. TLR-2 ligandıdır. MHCII makrofajlarında antijen üretiminin engellenmesi [16].
Salgı Sistemleri, Proteinler, Enzimler	
<i>Twin-arginine transporter (TAT transporter)</i>	*Hücre duvarı biyogenezi ve β -Laktam antibiyotiklere direnç [17]

VİRULANS FAKTÖRLERİ	GÖREVİ
<i>The ESX transporter</i>	*Sitoplazmik membranda bulunur, mikobakteriyel hücre duvarından proteinlerin giriş-çıkışı ile ilişkilidir [16].
● <i>ESAT-6 ailesi</i>	*T- Hücre olgunlaşması (IFN γ salınımı) *Gecikmiş tipte duyarlılık *ROS down regulasyonu ve makrofajlardaki lipopolisakkarit indüklenmiş nükleer faktör κ B aktivitesi *Makrofajlarda TLR-2 aracılı sinyalleşmenin engellenmesi *Makrofajların apoptozu *Makrofajların, kırmızı kan hücrelerinin ve pnömositlerin por oluşumu ile sitolizi *Fagolizozomdan sitoplazmaya bakteriyel translokasyon [17]
● <i>ESX-1</i>	*Konak hücre membranını parçalama [16,18]. *Fagozomdan kaçış [19].
● <i>ESX-3</i>	*Çinko ve demirin hücre içine alımı ile ilişkilidir. ESX3- tarafından üretilen heterodimerik yapıdaki moleküller makrofaj fagazom olgunlaşmasını engeller, bu da makrofajlar ve DC hücrelerinin CD++ aktivasyonunu engellemektedir [16].
● <i>ESX-5</i>	*Yalnızca yavaş üreyen mikobakterilerde bulunur. PPE ve PE ile ilişkilidir. *Hücre duvarının bütünlüğünün korunmasını sağlar [16].
● <i>PtpA ve SapM</i>	*Fagozomun normal işleyişini ve olgunlaşarak aktif fagolizozom oluşumunun engellenmesi (Fagozom tutulumu) [16,19].
<i>PE-PPE</i>	*Makrofaj varlığında granülom oluşumu, asit direnci, vakuol asidifikasyonu, apoptoza giriş, proinflamatuvar sitokin salınımı ile bakteriyel sağ kalım için önemlidir [16,19].
<i>Tip I NADH dehidrogenaz (NDH-1)</i>	*Konak makrofaj apoptozunun önlenmesi için önemlidir [16]
<i>SecA2</i>	*Fagozom olgunlaşmasını önleyerek hücre içinde MTB'nin hücre içi büyümesi için gereklidir. Bu nedenle konak makrofaj apoptozunu engellemek için önemlidir [16].
<i>Katalaz Peroksidaz</i>	*Bakteriyi ROS hasarından korumak için gerekli olan enzimdir. Hidrojen peroksitin parçalanması için kullanılmaktadır. TB patogeneğinde önemli bir yere sahiptir. Fagositlerde NADPH oksidaz tarafından üretilen peroksitin bakteriyeye zarar vermeyen bileşenlere dönüşmesi için gereklidir [19].
<i>Süperoksit Dismutaz (SOD)</i>	*Süperoksit radikallerinin detoksifiye edilmesi için üretilen bir metallo proteindir [16].
Protein Kinazlar	*MTB genomu, ökaryot benzeri 11 tane serin threonin protein kinaz kodlamaktadır. Bu pkn genleri çevresel adaptasyon, farklılaşma, hücre bölünmesi gibi fonksiyonlarda rol oynamaktadır [19].
<i>pknE</i>	*Nitrat stresi altında bakterinin apoptoza gidişinin engellenmesi, hücre içi sağkalım [16].

2.2.3.2. Patogenez

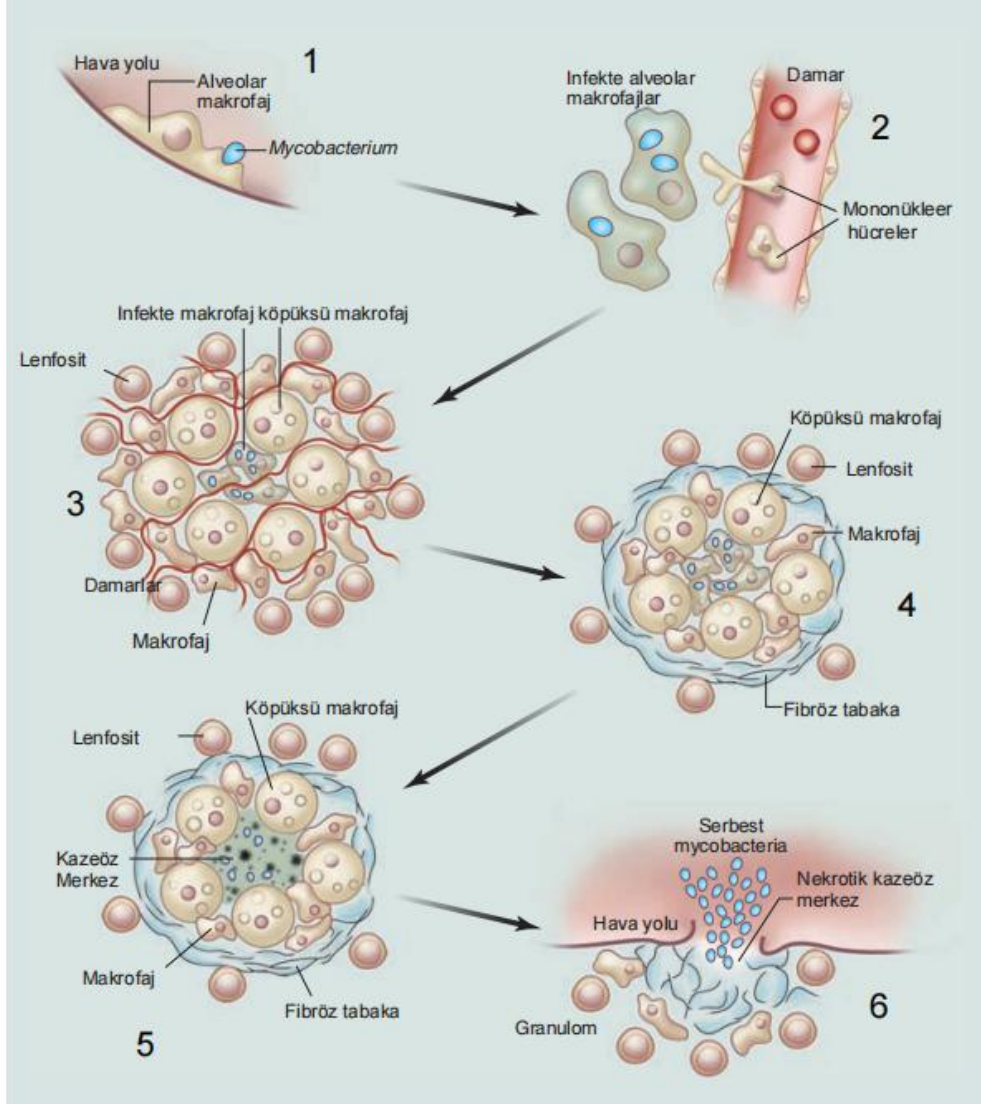
Tüberküloz enfeksiyonu, genellikle akciğerleri etkilemekte ve spesifik olmayan inflamatuvar yanıtlarla seyretmektedir. Bu spesifik olmayan inflamatuvar yanıtları granülomatöz reaksiyon takip etmekte ve mikobakterinin vücut içerisinde yayılımını kısıtlamaktadır [20].

Enfeksiyon, mikobakterilerin inhalasyonu ile başlar. Alveollere ulaşan mikobakteri, burada alveolar makrofajlarca fagosite edilir (Şekil 2.2.-1) [21]. Konak makrofajlarına girişin başlangıç aşamalarında, *M. tuberculosis* ve diğer hücre içi patojenler fagozom olarak adlandırılan endositik vakuollerce tutulur. Fagozomların olgunlaşması normal döngüsünde devam ederse, yani fagozom-lizozom füzyonu gerçekleşirse, bu bakteriler asidik pH, reaktif oksijen türleri (ROS), lizozomal enzimler, toksik peptidlerin bulunduğu olumsuz koşullara maruz kalabilir. Konak makrofajları tarafından yaratılan bu olumsuz koşullar, konağın temel antimikrobiyal yanıtıdır. Mikobakteriler bu olumsuz koşullara, sahip olduğu virulans faktörleri ile karşı koymaktadır [22].

Mikobakterinin fagozomlarca tutulumu, inflamatuvar yanıt oluşumunu tetiklemektedir. Artan bakteri popülasyonuna karşı, ortamda komşu damarlardan mononükleer hücrelerin fagozomlara geçişi söz konusudur (Şekil 2.2.). Bu hücreler daha sonrasında “granülom” adı verilen yapıları oluşturur. Başlangıçta oluşan granülom yapısında; makrofajlar, monositler ve nötrofiller bulunurken, makrofajların çok çekirdekli dev hücreler, köpüksü makrofajlar ve epiteloid makrofajlar gibi özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşması ile çeşitlenir. Kazanılmış immün yanıtın gelişimi ve lenfositlerin granüloma geçişi ile granülom daha organize ve katmanlı bir yapı kazanır [21].

Lenfositlerle çevrili olan granülom, yapının çeperlerini daha belirgin hale getiren fibröz bir kese ile kaplanır. Bakteriler bu evrede dormant halde kalmaktadır. Oluşan granülomun büyüklüğü ile ters orantılı olarak bakteriler konak tarafından kolayca öldürülebilir. Ancak granülom ne kadar büyükse bakterinin dormant halde kalabileceği ve yıllar sonra yeniden aktive olabileceği koşullar oluşana dek yaşamını sürdürebileceği bir ortam kazanılmış olur. Makrofajların çeşitli hücrelere farklılaştığı bu evrede köpüksü makrofajların sayısı da artar. Köpüksü makrofajların sayısındaki artış ile kazeöz merkez oluşur. Kazeöz merkez, granülom içerisindeki bakterinin kendisi için uygun ortamla birlikte çoğaldığı bölgedir [21].

Tüberküloz enfeksiyonunun latent ya da aktif olmasına göre iki farklı durumla karşılaşılır. Latent tüberküloz enfeksiyonunda bakteri canlı ancak hastalık yapmayacak şekilde varlığını sürdürür. Konağın immünsüpresyonu gibi durumda tekrar ortaya çıkma ihtimali söz konusudur. Latent tüberküloz enfeksiyonunda tüberkülin deri testi pozitif olmasına karşın konak klinik bir belirti göstermez. Primer (aktif) tüberküloz enfeksiyonunda ise fibröz kese yırtılır ve kazeöz merkezde çoğalan bakteri lenf ve kan yoluyla konağın uzak bölgelerine yayılım gösterir (Şekil 2.2.) [23].



Şekil 2.2. Tüberküloz patogenezi. Tüberkül basilleri inhale edildikten sonra alveolar makrofajlar tarafından fagosite edilir, ancak canlılıklarını korur (1). İnflamatuar yanıt ile enfekte hücrelerin alt epitelyumu istilası tetiklenir, aynı zamanda dolaşımdan monositlerin alınmasına neden olur (2). İnfeksiyon bölgesinde aşırı damarlanma görülür. Granüolardaki makrofajlar, lipid damlacıklarla dolu epitelioid hücreler, çok çekirdekli dev hücreler ve köpüksü hücreler olmak üzere farklılaşır (3). Makrofajların dışında yer alan hücre dışı matriks bileşeninden fibröz tabaka oluşumu ile granülom kalınlaşabilir (4). Kalınlaşan granülom ile gerçek tüberkül şekillenir. Lenfositler ve makrofajlarla çevrili granülom içerisinde kazeöz merkez oluşur. Hastalığın seyri ilerledikçe vaskulerite azalır, nekroz artar (5). Nekrozun artışı ve kazeöz merkez içinde bakterilerin çoğalması ile tüberküle erime başlar. Bakteri, bronşlar ve diğer solunum sistemlerine yayılır (6) [21,23].

2.3. Tüberküloz Dışı Mikobakteriler

Tüberküloz Dışı Mikobakteriler, tüberküloza neden olan *M. tuberculosis* ve lepra etkeni olan *M. leprae* dışındaki diğer mikobakterilerdir. Altta yatan akciğer hastalıklarına sahip olan ya da immün süprese bireyler TDM enfeksiyonu için riskli gruptadırlar. TDM'ler, Robert Koch'un 1882 yılında tüberküloza neden olan ajanın *M. tuberculosis* olduğunu belirlemesinden yıllar sonra tanımlanmıştır. Günümüzde ise hali hazırda tanımlanmış olan 150'den fazla Mycobacterium türü bulunmakta ve daha fazlası da keşfedilmeyi beklemektedir. Kültür teknikleri ve 16S rRNA genindeki farklılıkların saptandığı moleküler yöntemlerin gelişmesiyle birlikte türler arasında kesin ayırım yapılabilmekte ve tanımlanan türlerin sayısında hızlı artış görülmektedir. Mikobakteriyel 16S rRNA'sında nükleotid uzantıları, Mycobacterium türleri arasında sıkça karşılaşılan ve türe özgü değişkenlik ile karakterize edilen çoklu değişken bölgelere sahiptir [24,25].

Toprak, doğal su kaynakları vb gibi çeşitli ortamlarda yaşamlarını sürdürebilen TDM, elimine edilmesi zor olan, biyofilm oluşturarak hayatta kalabilen, lipid bakımından zengin hücre duvar yapısı ve aerosolizasyonla birlikte birçok antibiyotik ve dezenfektana karşı direnç gösterebilme yeteneğine sahip bakterilerdir [26]. Çeşitli sıcaklıkta çevresel koşullarda yaşayabilen ve antibiyotik dirençli olan bu mikobakteriler kolayca gözden kaçabilmekte, tanı ve tedaviyi güçleştirebilmektedir [27].

Tüberküloz, semptom gösteren hastaların *M. tuberculosis* basili içeren damlacıklarını saçması ve sağlıklı bireylerin bu damlacıkları solumasıyla yayılım gösterirken, TDM'lerde durum böyle değildir. TDM'ler çevre kaynaklı aerosoller aracılığı ile yayılmaktadır. Bu aerosollerin inhalasyonu ile hem MTB hem de TDM'ler akciğerde alveolar makrofajlar tarafından fagosite edilmektedir. İnhalasyon sonrasında akciğerlere ve oradan da dolaşıma geçerek farklı enfeksiyon bölgesine yerleşmekte, çeşitli bağışıklık hücrelerinin etkisi ile granülom oluşumu gerçekleştirmektedir. Tüberküloz ve TDM'lerin patogenezi ortak hücrel ve moleküler olayları paylaşırsa da aralarında klinik açıdan farklılıklar bulundurmaktadır [28].

Tüberkülozun endemik olduğu ülkelerde TDM enfeksiyonlarının doğru tespitinin yapılamaması, öksürük, ateş, kilo kaybı, halsizlik gibi tüberküloz semptomları olan vakaların yanlış teşhisine yol açmaktadır. Bu durum, TDM vakalarının gereksiz yere uzun, pahalı ve potansiyel olarak toksik TB tedavisine neden olabilmektedir. TDM tedavi protokolündeki farklılıklar nedeniyle TB ve TDM enfeksiyonlarının ayrımı ve doğru tanımlanması önem taşımaktadır [29].

2.3.1. Tüberküloz Dışı Mikobakterilerin Sınıflandırılması

TDM'lerin keşfinden sonra çok sayıda sınıflandırma yöntemi önerilmiş, ancak Ernest Runyon tarafından 1959 yılında yapılan sınıflandırma halen günümüzde geçerliliğini korumaktadır [25,30]. Buna göre TDM'ler fotokromojen, skotokromojen, nonkromojen ve hızlı üreyen olarak dört grupta sınıflandırılmaktadır (Tablo 2.3.) [24]. Ancak bu dört gruplu sınıflandırma dışında yavaş ve hızlı üreyenler olarak iki grup altında sınıflandırma da yapılmaktadır.

Tablo 2.3. Tüberküloz Dışı Mikobakterilerin Sınıflandırılması [13,30].

SINIF	MİKROORGANİZMA	AÇIKLAMA	
Fotokromojen	<i>Mycobacterium asiaticum</i> <i>Mycobacterium kansasii</i> <i>Mycobacterium marinum</i> <i>Mycobacterium simiae</i>	Işık varlığında pigment üreten türlerdir. Karanlıkta pigment üretmezler.	
Skotokromojen	<i>Mycobacterium flavescens</i> <i>Mycobacterium gordonae</i> <i>Mycobacterium scrofulaceum</i> <i>Mycobacterium szulgai</i>	Karanlıkta ürerken pigment üretirler.	
Nonkromojen	<i>Mycobacterium avium</i> complex <i>Mycobacterium celatum</i> <i>Mycobacterium haemophilum</i> <i>Mycobacterium gastri</i> <i>Mycobacterium genavense</i> <i>Mycobacterium malmoense</i>	<i>Mycobacterium nonchromogenicum</i> <i>Mycobacterium shimoidei</i> <i>Mycobacterium terrae</i> <i>Mycobacterium trivale</i> <i>Mycobacterium ulcerans</i> <i>Mycobacterium xenopi</i>	Pigmentsiz ya da hafif pigmentli kolonilerdir.
Hızlı Büyüyenler	<i>Mycobacterium abscessus</i> <i>Mycobacterium fortuitum</i> group <i>Mycobacterium chelonae</i> group <i>Mycobacterium immunogenum</i>	<i>Mycobacterium mucogenicum</i> <i>Mycobacterium phlei</i> <i>Mycobacterium smegmatis</i> <i>Mycobacterium vaccae</i>	

2.3.2. Tüberküloz Dışı Mikobakterilerde Virulans

Tüberküloz Dışı Mikobakteriler, toprak ve su gibi farklı ortamlarda yaşamlarını sürdürebilen, koloni oluşturabilen ve insan sağlığı için tehdit edici olan mikroorganizmalardır. TDM'lerin farklı ortamlarda hayatta kalabilme, farklı koloni morfolojileri, kayma hareketi ile biyofilm oluşturma gibi eşsiz birçok yeteneği virulansında, insan konağı enfekte edebilme yeteneğinde önemli rol oynamaktadır (Tablo 2.4.).

Tablo 2.4. Tüberküloz dışı mikobakterilerde virulans ve rol oynayan bazı genler.

Virulans Faktörleri	Özellikleri
Mikobakteriyel Dış Membran	*Oldukça hidrofobik ve geçirgen olmayan mikobakteriyel hücre duvar yapısı, TDM'lerin ekstrem koşullara direnç ve sağkalımı için gerekli olan önemli bir yapıdır [31].
ESX-3	*ESX protein salgı sisteminde yer almaktadır. <i>M. abscessus</i> 'un hayvan enfeksiyon modellerinde de sağkalımını destekler [32].
MAB_4780	*Dehidrataz, mikolik asit metabolizmasında rol aldığı düşünülmektedir [32].
MmpL8	*Plazma membranından glikolipidlerin taşınımında rol oynayan membran permeaz [32].
Pmt	*Protein-Omannoziltransferaz, mikobakteriyel hücre duvarındaki lipoproteinlerin glikozilasyonundan sorumludur. <i>Apmt</i> β-laktam ve yüksek molekül ağırlıklı antibiyotiklere duyarlılığında, hücre duvar geçirgenliğinde ve hücre içi sağkalımda önemli rol oynamaktadır [32,33].
PlcC	*Çok sayıda bakteriyel patojenin virulansında yer alan fosfolipazdır. Ökaryotik hücre lizisini indükler ve <i>M. abscessus</i> 'un hücre içi sağkalımını destekler [32].
MgtC	*Membran bağımlı ATPazdır. Makrofaj enfeksiyonu sırasında transkripsiyonal ve translasyonel düzenlemeler ile magnezyumca zayıf ortamda optimal üremenin sağlanmasında görev alır [32,34].
mmpA, mmpB	*Hücre membranından taşımada görev alan porindir [32].
Mycolactone	*Mikolakton, mikobakteri türlerinden izole edilen ilk toksin ve aynı zamanda patojenik mikobakteri türlerinden izole edilen ilk kompleks poliketiddir. Dermonekrotik ve immün baskılayıcı aktiviteleri bulunan bir virulans faktörüdür [31,35].
Yavaş Üreme	*Karakteristik yavaş üreme ve TDM metabolizması farklı koşullara uyum sağlama, antimikrobiallere ve dezenfektanlara direnç aynı zamanda anaerobiyotik ortam, açlık, düşük pH, yüksek sıcaklık ve osmotik stres gibi çevresel stres faktörlerine dirençte önemli rol oynamaktadır. Mikobakterinin bu aşırı stresli koşullara uyum sağlaması genel olarak hücrenin dormant duruma girişi, yani metabolizmasını yavaşlatarak hücreyi yaşamını tehdit edecek koşullardan koruması ile karakterizedir [31].

Virulans Faktörleri	Özellikleri
Biyofilm oluşturma ve Quorum-Sensing	TDM, Quorum -sensing benzeri mekanizmalar sayesinde, temel olarak hücre yüzey hidrofobisitesine bağlı olarak biyofilm benzeri yapılar oluşturma yeteneğine sahiptir. TDM'nin katı yüzeylere yayılımı, <i>M. avium</i> , <i>M. abscessus</i> ve <i>M. smegmatis</i> gibi türlerde biyofilm oluşumunda önemli rol oynayan glikolipidlerce sağlanmaktadır. Yağ asitleri ucu ile TDM glikolipidleri arasındaki hidrofobik etkileşimler ve hidrofobik yüzeyin varlığı, mikobakterinin yayılım ve tutunmasını sağlar. <i>M. abscessus</i> , <i>M. aurum</i> , <i>M. avium</i> , <i>M. gordonae</i> , <i>M. haemophilum</i> , <i>M. intracellulare</i> , <i>M. marinum</i> , <i>M. shimoidei</i> , <i>M. terrae</i> , ve <i>M. ulcerans</i> gibi türlerin sudaki biyofilm yüzeylerinden izole edildiği bilinmektedir. Biyofilm oluşumunda direkt ya da indirekt olarak Quorum- sensing mekanizmasının da rol aldığı düşünülmektedir [31,36,37].
MmpL4b	* <i>M. abscessus</i> yüzeyinde yer alan glikopeptidolipid taşınımını kolaylaştırmada görev alan membran bağlı proteindir [32].
LuxR	*Quorum- sensing benzeri mekanizmada görev alır [36].
MAB_3168c geni	*MAB_3168 geni varlığında <i>M. abscessus</i> 'un R tipi koloni oluşturduğu bunun da biyofilm oluşturma yeteneğine daha yatkın olan bağlı mikrokoloni oluşturma ile karakterize edildiği ve daha yüksek virulans gösterdiği yapılan çalışmalar sonucu görülmüştür. Genin baskılanması durumunda ise R tipi koloniden S tipi koloniye geçiş gözlenmiştir [31,32,37].
Transkripsiyonal Düzenleme	*Mikobakterilerin transkripsiyonel ağının sigma (σ) faktörü olarak isimlendirilen kodlama yapmayan düzenleyiciler tarafından oluşturulduğu düşünülmektedir. Her faktörün sağkalım için majör stres yanıt faktörü, durağan faz düzenlenmesi, açlık düzenlenmesi, pH stresi altında sağ kalım, farklı sıcaklıklar ve oksidatif stres altında üreme gibi çeşitli rollerinin olduğu düşünülmektedir. Bu gibi çok sayıda σ faktörü varlığı, çeşitli çevresel koşullar için transkripsiyonal adaptasyona olanak sağlar [31].
Antimikrobiyal Direnç	*Dış membran hidrofobisitesi ve geçirgen olmayışı, mikobakteriye antimikrobiyal direnç özelliği kazandırmaktadır. Bu nedenle TDM az sayıda antimikrobiyale duyarlıdır [31].
Efflux Pumps	*Antimikrobiyallerin hücre içinde birikimini önleyerek doğal ve kazanılmış dirence katkı sağlar. TDM'ler için efflux pompalarının beş farklı üst aileden oluştuğu bildirilmektedir [31]: ABC süper ailesi, major facilitator süper ailesi (MFS), küçük çoğul ilaç direnci süper ailesi (SMR), direnç- nodülasyon- hücre bölünmesi (RND) süper ailesi, çoğul ilaç direnci ve toksik bileşik ekstrüzyonu (MATE).
Protozoa-Mikobakteri Simbiyozu	*TDM'ler amip gibi protozoalarca fagosite edildikten sonra hayatta kalabilme ve endosimbiyozla üreme yeteneğine sahiptir [31].
eccB4 (ESX-4 ailesinde yer almaktadır)	* <i>M. abscessus</i> 'un amip ve makrofajlar tarafından fagositozunun engellenmesi ile sağkalımını sağlar. Fagozom-sitozol iletişiminde rol oynamaktadır [32].
PtpA, PtpB ve SapM	*Bu üç fosfatın <i>M. marinum</i> 'un amip içerisinde hücre içi replikasyonu ile dolayısıyla vakuol asidifikasyonu ve vakuol içerisinden konak sitozolüne kaçış ile ilişkili olduğu yapılan çalışmalar sonucunda gözlemlenmiştir [31,38].

2.4. Tanı Yöntemleri

Tüberküloz tanısı için kapsamlı bir yaklaşım gereklidir. Genel olarak tüberküloz tanısı için 5 aşamalı bir süreç izlenmektedir;

- 1- Anamnez
- 2- Fiziksel muayene
- 3- Radyografi
- 4- *M. tuberculosis* enfeksiyon tanı testi
- 5- Laboratuvar tanısı [39].

2.4.1. Laboratuvar Tanısı ve İdentifikasyonu

Tüberküloz, enfeksiyöz bir hastalık olduğundan kesin tanı mikrobiyolojik olarak yapılmaktadır. Mikrobiyolojik laboratuvar tanısı, mikobakterinin saptanması, izolasyonu, izolatların mikobakteriyel tür ya da kompleks düzeyinde identifikasyonu ve organizmanın antimikobakteriyel duyarlılığının tanımlanması aşamalarını içermektedir [40].

Mikobakteriyel enfeksiyonlar lokalize ya da sistemik olabilmektedir. Enfeksiyonun bu çeşitliliği nedeniyle vücut salgıları, sıvıları ya da dokuları dahil çok çeşitli örnekler laboratuvar analizlerinde kullanılabilir. Laboratuvar analizinin kalitesi ve doğruluğu, örneğin kalitesi ile doğru orantılıdır. Bu da örneğin doğru alınması, doğru etiketlenmesi, laboratuvara hızlı ve uygun saklama/taşıma yöntemleri kullanılarak iletilmesi ile ilişkilidir [41].

Griffith ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları çalışmalarında; TDM'ler için kültür işleminde hem katı hem sıvı besiyeri kullanılması, özel üreme koşullarına ihtiyaç duyan türler için gerekli şartların sağlanması ve TDM'lerin tür düzeyinde tanımlanması gerektiğini bildirmiştir. Ticari DNA problemleri ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) gibi yöntemler hızlı üreyen türlerde tercih edilebilmektedir. Bazı TDM izolatları için *in vitro* antimikrobiyal duyarlılık, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) restriksiyon endonükleaz testleri (PRA) gibi ek identifikasyon testlerine ihtiyaç olabilmektedir [5].

2.4.1.1. Mikroskopi

Mikobakteriyel enfeksiyonun ilk tanısı, laboratuvara gelen örneklerin yayma preparat yapılarak aside dirençli boyama tekniği kullanılarak incelenmesi ile gerçekleşir. Mikroskopi, aside dirençli basil (ARB) görülmesi için en hızlı, en ucuz ve en kolay yöntemdir. Aside dirençli boyama için Ziehl-Neelsen ve Kinyoun metodunun yer aldığı karbolfuksin veya auramine-O boyasının kullanıldığı florokrom yöntemleri tercih edilmektedir [40,41].

Aside dirençli boyama tekniği ile boyanmış yayma preparatlarda ARB saptanması klinik örnekte mikobakterinin varlığının ilk bakteriyolojik kanıtı niteliğindedir. Ayrıca izole edilen basil sayısının tahmini kantitatif değerinin belirtilmesi hastanın enfeksiyon derecesini değerlendirmede klinik ve epidemiyolojik olarak önem taşımaktadır [40].

Mikroskopide boyama tekniğine göre ışık mikroskobu ya da floresan mikroskop kullanılabilir. Yayma preparat, direkt klinik örnekten ya da konsantre edilmiş örnekten hazırlanabilir. CLSI- M48 kılavuzuna göre en iyi yayma preparat dekontamine edilmiş ve santrifüj kullanılarak konsantre edilmiş örneklerden hazırlanmaktadır [41].

Laboratuvar hataları, örneğin uzun süreli dekontaminasyonu, kültürün kısa inkübasyon süresi, yayma preparatların çapraz kontaminasyonu, su ya da kullanılan boyaların ARB ile kontamine olması gibi sorunlar, yayma pozitif- kültür negatif test sonuçlarına neden olabilmektedir. Bu nedenle laboratuvarında yanlış pozitif ya da yanlış negatif sonuçlara dikkat edilmelidir [40].

2.4.1.2. Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri- Moleküler Yöntemler

Nükleik asit testleri (NAT), spesifik bir nükleik asit dizisini saptamak için yapılan deneylerdir. Genel olarak NAT'lar, patojen mikroorganizmanın tür ya da alt türünü saptamak ve tanımlamak amaçlı kullanılır (Tablo 2.5.). Antijen ya da antikor temelli testler daha uzun süre gerektirdiğinden, genetik materyalin saptandığı NAT'lar, hızlı ve erken tanıya yardımcı testlerdir. Özellikle genetik materyal miktarının az olduğu klinik örneklerde NAT kullanılarak genetik materyal miktarı amplifikasyon ile çoğaltılır ve böylece etken olan mikroorganizma daha kolay saptanmış olur. Bu nedenle bu testler Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri (NAAT) olarak adlandırılır [42].

NAAT'lar temel olarak hızlı bir şekilde tüberküloz tanı ve direnç tespitini sağlamaktadır. Direnç testleri ile hastada etken olan suşun dirençli ya da duyarlı olduğunun tespiti hızlı bir şekilde yapılarak, ilaç tedavisi düzenlenebilir. NAAT'ların ARB yayma preparatlara kıyasla duyarlılık ve özgüllüğünün daha yüksek olması, semptomu olmayan ya da yayma negatif hastalarda erken tanıya olanak sağlar [41].

Tablo 2.5. Tanıda kullanılan nükleik asit amplifikasyon temelli testler.

TEKNİK	TEST	AÇIKLAMA
Real-Time PCR	COBAS TaqMan MTB	Klinik örneklerde MTBC DNA'sını saptamayı sağlayan TaqMan problemleri kullanılarak yapılan 16S rRNA amplifikasyon testidir [43].
	Xpert MTB/RIF	Minimal kullanıcı müdahalesi ile MTB ve rifampisin direncini saptamayı sağlayan otomatize Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) temellidir. GeneXpert isimli bir cihaz aracılığı ile test gerçekleştirilir [42,43].
Loop-mediated Isothermal amplification (LAMP)	TB-LAMP	Thermalcycler ihtiyacı olmadan nükleik asit amplifikasyonu gerçekleştirilir. Spesifik, etkin ve izotermal koşullarda oldukça hızlı tasarlanmış 4 set primer ve zincir değişimi aktivitesi için DNA polimeraz kullanılarak az miktardaki DNA kopyası çoğaltılır. Çoğaltılan ürünlerin saptanması görsel olarak yapılır. Direkt reaksiyon tüpü içerisinde ultraviyole lamba kullanılarak reaksiyon izlenir [42,43].
Line Probe Assay (LPA)	GenoType MTBDR plus	PCR ürünlerinin ters hibridizasyonu ile tamamlayıcılığa dayalı prob temelli bir metottur. Çoklu mikobakteriyel türlerinin yüksek hassasiyetle hızlı tanısına olanak sağlar [28]. LPA MTBC DNA'sını saptayabilen ve direnç profilini belirleyebilen DNA strip temelli bir testtir. Wild-type DNA dizisinin ya da antitüberküloz ilaçlarına dirençle ilişkili mutasyonların hedeflendiği spesifik MTBC genom parçasını hedefleyen problemler, amplifikasyon ürünlerine bağlanarak strip üzerinde renk değişimlerinin gözlenmesine olanak sağlayan bir testtir [42,43].
Lateral Flow	Alere LAM	İdrar numunesinin kullanıldığı LAM testi, düşük hassasiyet ve özgüllüğü sebebiyle tüm popülasyonlarda tanı amaçlı tercih edilmemektedir. LAM testi, HIV ile koenfekte bireylerde tanı için kullanılabilir [39,48]. Test temel olarak idrar numunesinde mikobakteriyel lipoarabinomannan antijeninin saptanmasına dayanmaktadır. İdrar örneğinin alınması, saklanması kolay olması ve hasta başında uygulamaya olanak sağlaması testin avantajıdır. Sonuçlar strip üzerindeki renk değişimi ile görülen çizgilerin yorumlanması ile belirlenir [42,44].

2.4.1.3. Kültür ve İdentifikasyon

Tüberkülozun tanısı için kültür, altın standarttır [39]. Klinik örnekler uygun homojenizasyon ve dekontaminasyon işlemlerinden sonra besiyerine ekilir.

Kültür işlemi;

- 1- Mikroskopi yöntemine göre daha hassas olduğu için 10 CFU/mL gibi az miktarda bakteri içeren örnekte bile saptama yapılabilir,
- 2- Kesin tür tayini ve ilaç duyarlılık testinin yapılabilmesi için mikroorganizmanın elde edilmesine olanak sağlar,
- 3- Üreyen mikroorganizmanın genotip tayini, hastalar arasında epidemiyolojik ilişkinin belirlenmesi ya da laboratuvarında çapraz kontaminasyonun saptanmasına olanak sağlar [40].

Kültür işlemlerinde kullanılacak birçok farklı içeriğe sahip besiyeri bulunmaktadır. Kullanılacak besiyerleri katı ve sıvı olabileceği gibi, selektif veya nonselektif olarak da ayrılabilir. CLSI M48 kılavuzunda sıvı besiyerinin katı besiyerine göre daha hızlı ve kesin sonuç verdiği belirtilmekte, bu nedenle dünya çapında genellikle sıvı besiyeri kültür amaçlı tercih edilmektedir [41]. Buna karşın katı besiyeri, sıvı besiyerine göre; koloni morfolojisini inceleme, karışık mikobakteriyel enfeksiyonların tespitini sağlama gibi avantajlar barındırmaktadır. Bu nedenle hem sıvı hem de katı besiyerinin kültür işleminde birlikte kullanılması önerilmektedir [29,41].

Katı besiyerleri birçok mikobakteri türünün üremesini destekleyici niteliktedir. Genellikle yumurta temelli ve agar temelli olmak üzere iki çeşit katı besiyeri kullanılmakta ve bu besiyerleri buzdolabı ısısında saklanmaktadır [41].

Löwenstein-Jensen (LJ) besiyeri, en sık tercih edilen yumurta temelli besiyeridir. İçeriğindeki malaşit yeşili sayesinde bakteriyel ve fungal kontaminasyonu engelleyen seçici bir besiyeridir. LJ besiyeri, MTBC ve diğer mikobakterilerin üremesini teşvik edici özelliğe sahip olsa da birçok TDM türünün üretilmesi için sıklıkla tercih edilen bir besiyeri değildir [41].

Agar temelli besiyerleri arasında Middlebrook 7H10 agar ve 7H11 agar en sık kullanılan besiyerlerdir. Agar temelli besiyeri, şeffaf olması, koloni sayımına ve koloni morfolojisini gözlemlemeye izin vermesi, yumurta temelli besiyerine kıyasla daha kısa sürede etkeni üretebilmesi gibi birçok avantaja sahiptir. Ancak LJ besiyerine göre daha pahalı, sıvı besiyerine göre daha yavaş üreme süresi, laboratuvarında hazırlamada zorluk gibi birçok dezavantajı da bulunmaktadır [41].

Katı besiyerinde mikobakteriyel üreme gözlemlendiğinde, ölçülen koloni sayısı CLSI M48 rehberinde belirlenen kriterlere göre raporlanmalıdır. Sıvı besiyerlerinde üreme, katı besiyerlerindeki üreme gibi gözlemlenemeyeceği için sıvı besiyerlerindeki üreme ve antimikrobiyal direnç, MGIT gibi otomatize kültür sistemleri ile belirlenerek raporlanmaktadır [40,41].

Üreyen kültür örneğinde TDM- MTBC ayrımı, tür tayini ve ilaç duyarlılık testleri yapılarak hasta için uygun tanı ve tedavi yöntemleri belirlenmelidir. Mycobacterium cinsi, 80'den fazla tür barındırmaktadır. TDM- MTBC ayrımının doğru yapılması klinikte tedavi açısından oldukça önemlidir. Mikobakterilerin identifikasyonu için kullanılan yöntemler zaman içinde hızla gelişim göstermekte ve uzun süreli biyokimyasal testlere göre daha hızlı sonuç veren Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF-MS), hibridizasyon, dizileme gibi yöntemler tercih edilmektedir[45].

MALDI-TOF-MS, katı besiyerinde üreyen bakterilerin türe özgü protein profillerinin saptanması ile tanımlama yapılmasını sağlar. Lazer atışları, pleyt üzerindeki matriks materyaline gömülü olan örneğe ait ribozomal proteinlerinin salınmasına neden olur. Elektrik akımı içerisinde iyonlar kütesine ve elektrik yüküne göre hızla hareket eder. Bu hareket, daha ileri ayrımın yapılmasına ve salınan proteinlerin uçuş sürelerinde farklılık oluşmasına neden olur. Salınan proteinler uçuş sonunda vakumlu tüpün üst kısmına ulaşır ve bu kısımda uçuş süresi ve polipeptidlerin kütesi hesaplanır. Güvenilir bir yöntem olmasına karşın potansiyel hatalardan kaçınmak amacıyla identifikasyonu yapılacak mikroorganizmanın büyüme hızı, koloni morfolojisi, pigmentasyon gibi fiziksel özelliklerinin MALDI-TOF MS sonucu ile paralellik göstermesine dikkat edilmelidir [45].

Mikobakteri türlerinin sayısındaki artış, kesin tür tayinine elverişli problemlerin yetersiz olması gibi sorunlar nedeniyle amplifikasyon sonrası DNA dizileme identifikasyon için en kesin ve kapsamlı bir yöntem olarak yer almaktadır. Dizileme için

kullanılacak olan nükleik asit kaynağı olarak bakteri kolonileri ya da sıvı kültürden elde edilen bakteri pelletleri kullanılabilir [46]. Seçilen bölge ilk olarak PCR ile çoğaltılır, daha sonrasında geleneksel Sanger dizileme yöntemi ile nükleotid dizisi tanımlanır. CLSI M48'e göre 16S rRNA dizisinin, mikobakteriyel identifikasyon için en net bilgi veren bölge olduğu belirtilmektedir. Tüm 16S rRNA geni, 1500 baz çifti (bç) uzunluğunda olduğundan tüm geni dizilemek yerine, en çok değişkenlik gösteren bölge olan ilk 500 bç'lik bölgenin dizilenmesi tercih edilmekte ve mikobakterinin identifikasyonu gerçekleştirilmektedir. Ancak *M. marinum*/*M. ulcerans*; *M. kansasii*/*M. gastri*; *M. genavense*/*M. simiae* gibi bazı TDM'lerin tür tayininde bu bölge benzerlik gösterdiğinden identifikasyon güçleşmektedir. Bu nedenle *hsp65* geni, 23S-16S rRNA ya da *rpoB* geni gibi diğer gen bölgeleri dizileme amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır [41,46].

Kromatografi, mikolik asitlerin karbon uzunluğuna ve yüklerine göre ayrımının yapıldığı bir testtir. Mikobakteri hücre duvarı mikolik asitleri türler arasında kompozisyon olarak değişkenlik gösterdiğinden kromatografi tercih edilen yöntemlerden biridir. Thin-Layer Chromatography (TLC), Gas-Liquid Chromatography (GLC) ve High Performance Liquid Chromatography (HPLC) olmak üzere farklı çeşitleri bulunmaktadır. HPLC, yakın ilişkili türlerin, özellikle TDM'lerin identifikasyonu için yetersiz kalmaktadır [46].

Kültürü yapılan örnekte, üreme görülmesi sonucunda spesifik problemler kullanılarak identifikasyon yapılabilir. Katı besiyerinde üreyen koloni ya da üreme gözlenen sıvı besiyerinden 100µl kullanılarak hedef nükleik asidin izolasyonu gerçekleştirilir. Kemilüminesans boya olan akridinyum ester işaretli tek zincirli DNA problemleri, bakteri hücrelerinde bol miktarda bulunduğu için PCR ile çoğaltmaya gereksinim duyulmaksızın, doğrudan komplementer rRNA hedefleri ile birleşerek bir hibrit oluşturur. Hibrit oluşturmayan bileşenler ortamdaki uzaklaştırılarak luminometre yardımı ile ortamdaki DNA:RNA hibritleri saptanır. Ancak otomatize olmaması, her prob için test işleminin tekrarlanması, MTBC içerisindeki türler arasında kesin ayrımın yapılamaması gibi dezavantajlar içerdiği için çok tercih edilen bir yöntem olarak görülmemektedir [41].

2.5. Tedavi Yöntemleri

Tüberküloz enfeksiyonu, DSÖ standartlarına göre izoniazid, rifampisin, etambutol ve pirazinamid olmak üzere “birincil grup” olarak adlandırılan dört antimikrobiyal ilacın kombine kullanımını içeren uzun süreli bir tedavi gerektirmektedir. Ancak bakterinin kullanılan ilaçlara karşı direnç kazanması durumunda, bu standart ilaçlarla tedaviye yanıt alınamamaktadır. İlaça dirençli tüberküloz vakalarında tedavide süreç daha uzun ve daha kompleks geçmektedir [8,47].

İzoniazid, 1952 yılında keşfedildiği tarihten bu yana kullanılmakta olan en etkili ve spesifik antitüberküloz ilaçlarından birisidir. Hızlı bölünen bakterilere karşı yüksek bakterisidal etkisi bulunmaktadır. İzoniazid bakteri hücre duvarında mikolik asit sentezini inhibe etmektedir [48,49].

Rifampisin, 1972 yılında keşfedilmiş güçlü ve etkili antitüberküloz ilaçlardan birisidir. Mikobakteriyel genlerin transkripsiyonundan sorumlu olan RNA polimerazın β alt birimine bağlanarak bakteriyel transkripsiyon aktivitesini inhibe eder. Bu nedenle mikobakteriyel protein sentez yolağı sekteye uğramış olur [48].

Pirazinamid kısa süreli kemoterapide ve çoğul ilaç dirençli tüberküloz (ÇİD-TB) vakalarında kullanılan önemli bir ilk seçenek antitüberküloz ilaçtır. Önemli ve kendine has bir mekanizma ile düşük pH’lı orta asidik ortamda etkisini göstermektedir [48,51].

Etambutol, arabinosil transferazları inhibe ederek bakteri hücre duvar sentezini engelleme yolu ile etkisini göstermektedir. Mycobacterium cinsindeki aktif olarak bölünen tüm mikroorganizmalar üzerinde etki gösterdiği bilinmektedir [48,50].

İlaç direncinin belirlenmesinde, kültür temelli yöntemler, moleküler yöntemler ya da sekanslama teknolojisi gibi yöntemler kullanılabilir. DSÖ tarafından 2006 yılında yayımlanan “The Stop MDR-TB Strategies Building on and enhancing DOTS to meet the TB-related Millennium Development Goals” isimli kılavuzda, ÇİD-TB vakalarını önleme ve kontrol altına almaya yönelik kilit eylemler, önerilen tedavi yaklaşımları, kalite garantili birincil ve ikincil anti TB ilaçların güvenli bir şekilde tedarik edilmesini, hastalar ve sağlık profesyonelleri tarafından doğru kullanımını vurgulamaktadır. Bu bağlamda ÇİD-TB tedavisinde kullanılan ilaçların ilk “modern” kategorizasyonu yapılmıştır [52,53].

İlaç direncinin tespit edildiği durumda 9-20 ay arasında değişen süre boyunca ikincil grup ilaçlar olarak adlandırılan, DSÖ tarafından üç gruba ayrılan bir dizi ilaç ile kontrollü ve uzun süreli bir tedaviye geçiş yapılır.

- Grup A: Levofloksasin, moksifloksasin, bedakulin, linezolid,
- Grup B: Klofazimin, sikloserin,
- Grup C: Etambutol, pirazinamid, delamanid, imipenem, amikasin, ethionamid ve para-aminosalisilik asit [9,54].

Levofloksasin/moksifloksasin, florokinolon olarak sınıflandırılan ikincil grup antitüberküloz ilaçlardır. Florokinolonlar *M. tuberculosis*'in DNA giraz enzimi inhibisyonuyla bakterisidal ve sterilize edici etki gösterir. Bu ikili etki, maliyet uygunluğu ve etkili tedavi açısından sıklıkla tercih edilmektedir [48,55,56].

Bedakulin, 2005 yılında Andries ve arkadaşları tarafından keşfedilmiş ve “Sirturo” ticari adı ile satışa sunulmuştur [6]. Bedakulin, diğer antitüberküloz ilaçlarından farklı olarak ATP sentezinin inhibisyonu yoluyla etki etmektedir [57]. Bu özelliği ile piyasadaki diğer antitüberküloz ilaçlarından farklı olarak sadece ilaca duyarlı tüberkülozun yanı sıra ÇİD-TB tedavisinde de kullanılan bir ilaçtır [58].

Linezolid, oksalidion olarak sınıflandırılan bakteriyel ribozomların 70S başlangıç kompleksine bağlanarak protein sentezini inhibe eden bir antibiyotiktir. Klinik kullanımda insan mitokondrilerine de bağlanarak protein sentezini inhibe edebildiği için toksik etkiye sahiptir. Birçok Gram pozitif bakteri ve ÇİD-TB suşlarına oldukça güçlü bir şekilde etki ettiği için tercih edilmektedir [59].

Türkiye’de tüberküloz kontrolü, tanısı ve tedavisi için 1998, 2003, 2011 ve 2019 yıllarında tanı ve tedavi rehberleri yayınlanmıştır. 2019 yılında yayınlanan “Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi”ne göre “tüberküloz hastalığının tedavisi için başlangıçta hastanın kilosuna göre belirlenen uygun dozda dört standart ilaç kullanımı” önerilmektedir. Başlangıç döneminin ardından kılavuzlarda belirtilen koşullara uygunluk durumuna göre “idame doz dönemine” geçiş yapılır. Bu dönemde ise yine DSÖ tarafından birincil ilaç olarak adlandırılan izoniazid ve rifampisin kullanılmaktadır. Dönemlerin seyrine göre uygulanması gereken standart doza klinisyen karar vermektedir [44].

Türkiye’de ÇİD-TB hastalarının 1990’lı yıllardan beri tedavi edildiği, yani Türkiye’de ilaç direnci vakalarıyla en az 30 yıldır karşı karşıya kalındığı bildirilmektedir. Gelişen dirençle birlikte hastalarda TB pozitiflik ve dolayısıyla bulaştırıcılık uzun süre devam etmektedir. Bu durumda ise T.C. Sağlık Bakanlığı, DSÖ standartlarınca belirtilen ikincil grup ilaçların kullanımını önermektedir [44].

2.5.1. Tüberküloz Dışı Mikobakterilerin Tedavisi

Son yıllarda Dünya çapında *M. avium* kompleks, *M. kansasii* ve *M. abscessus* kaynaklı solunum yolu enfeksiyonları dahil olmak üzere TDM ilişkili hastalıkların sayısında önemli derecede bir artış görülmektedir [3]. Bu artışın sebebi, semptomların erken fark edilmesi, saptama tekniklerindeki gelişmelerin yanı sıra duyarlı bireylerin sayısındaki artış ve aynı zamanda TDM’lerin biyofilm oluşturarak çeşitli ortam koşullarında hayatta kalabilmesi olarak görülmektedir. Biyofilm oluşturma gibi özelliklerine ek olarak TDM’lerin kalın hücre duvar yapıları sayesinde ilaç alımını kısıtlama, diğer bakterilerde olduğu gibi efflux pompaları oluşturma (örneğin *M.smegmatis*) özellikleri nedeniyle TDM’lerde antimikrobiyal direnç ile sıklıkla karşılaşmaktadır [60].

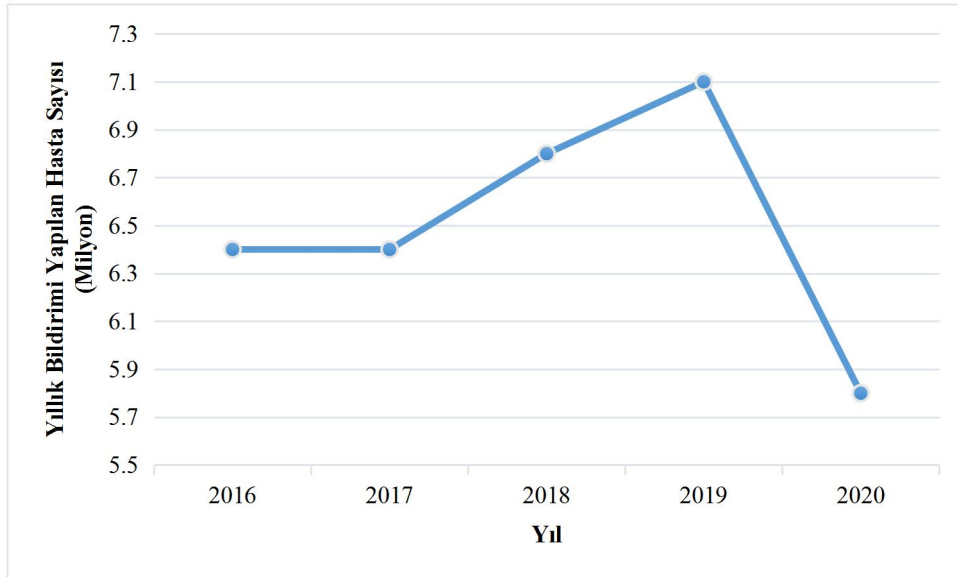
Tüberküloz dışı mikobakterilerin neden olduğu akciğer hastalıklarının tanısı, üreme özelliklerine göre değişkenlik gösteren bir zaman dilimi gerektirmektedir. Bu süreçte *M. tuberculosis* ya da diğer ARB’lerle karıştırılabileceğinden yanlış tanı konabilmektedir. Bu gibi durumlar tanının geç konması ve dolayısıyla tedavinin geç başlamasına neden olmaktadır [4]. Tanı koymadaki bu zorluk nedeniyle 2007 yılında Amerikan Toraks Cemiyeti (ATS) ve Amerikan Enfeksiyöz Hastalıklar Cemiyeti (IDSA) tarafından TDM enfeksiyonu tanı ve tedavi rehberi oluşturulmuştur [5].

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarına göre TDM'lerin tür tayini ve antimikrobiyal duyarlılık testleri yapıldıktan sonra uygun ilaç kullanılmalıdır. ATS ve IDSA rehberlerine göre TDM tedavisi için kullanımı uygun olan ilaçlar; İzoniazid, Etambutol, Rifampin, Rifabutin, Streptomisin, Amikasin, Tobramisin, Azitromisin, Klaritromisin, Siprofloksasin, Ofloksasin, Moksifloksasin, Sefoksitin, Tetrasiklinler, Sulfonamidler, Linezolid, İmipenem olarak bildirilmiştir. Ancak genel itibariyle bakıldığında bu ilaçlar en sık karşılaşılan TDM türleri (örneğin *M. abscessus*, *M. kansasii* ve *M.xenopi*) için ve genellikle makrolid temelli çoklu ilaç rejimleri olarak önerilmektedir [5].

2.6. Epidemiyoloji

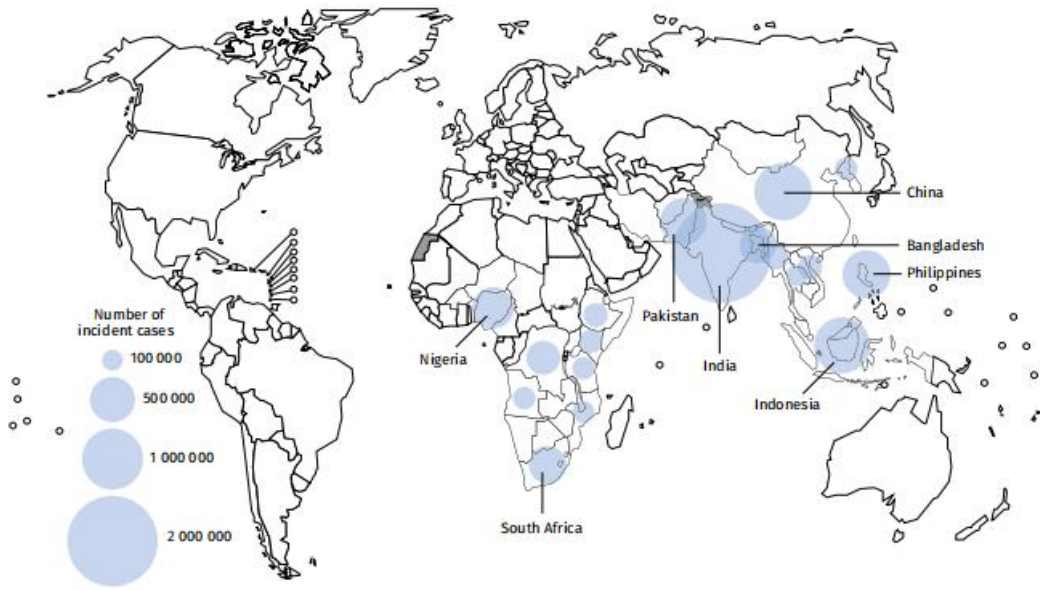
2.6.1. Dünya'da Tüberküloz Durumu

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2021 Tüberküloz raporuna göre COVID-19 pandemisiyle birlikte yeni tanı konan ve raporlanan tüberkülozlu bireylerin sayısında dramatik bir düşüş bildirilmiştir (Şekil 2.3.). Tüberkülozlu bireylerin sayısında 2017 ile 2019 yılları arasında geniş bir artış görülmekteyken, 2019-2020 yılları arasında %18'lik bir azalmayla 7.1 milyondan 5.8 milyona düşüş görülmektedir [9].



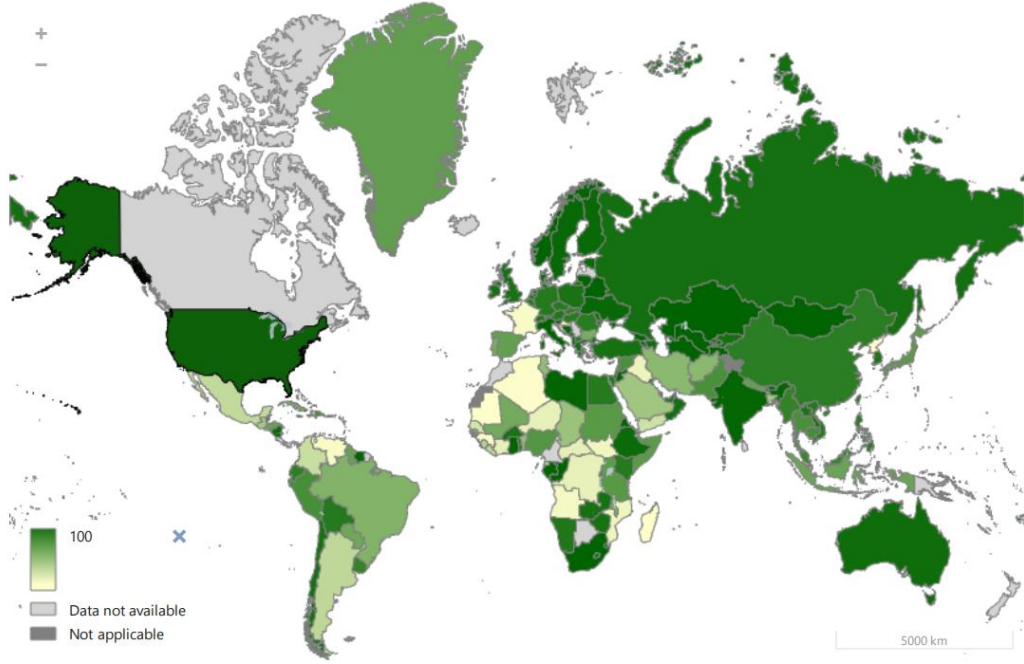
Şekil 2.3. 2016-2020 yılları arasında Dünya çapında tüberküloz tanısı konan bireylerin bildirimi. (Dünya Sağlık Örgütü 2021 Global Tüberküloz Raporu'ndan alınmıştır) [9].

2019 ve 2020 yılları arasında tüberküloz tanısındaki bu düşüşün, TB tanı ve tedavi hizmetlerinde arz-talep ilişkilerindeki aksamının da bir göstergesi olduğu düşünülmektedir. DSÖ raporuna göre, sağlık sistemlerinin hizmet sunmaya devam edebilme kapasitesinin azalması, karantina, kısıtlamalar ve buna bağlı olarak hareketin kısıtlı olması, sağlık kuruluşlarına gitme risklerine ilişkin endişeler gibi nedenler bu aksamalara örnek olarak verilebilir ve bunlar da COVID-19 döneminde TB vakalarının azalması arasındaki ilişkinin nedenlerini oluşturabilmektedir [9].



Şekil 2.4. En az 100 000 vaka barındıran ülkeler için tahmini 2020 TB insidansı. (Dünya Sağlık Örgütü 2021 Global Tüberküloz Raporu'ndan alınmıştır) [9].

Tüberküloz, yaşa ve cinsiyete bakmaksızın herkesi etkileyebilmektedir. Coğrafi olarak 2020 yılında DSÖ'nün verilerine göre en çok tüberküloz vakasının görüldüğü ülkeler; Güney-Doğu Asya (%43), Afrika (%25), Batı Pasifik (%18), Doğu Akdeniz (%8.3), Amerika (%3) ve Avrupa (%3) olarak sıralanmaktadır. Tüberkülozun en sık görüldüğü 30 ülke Dünya çapında açıklanan vakaların %86'sını oluşturmakla birlikte, bu ülkelerin 8 tanesi [Hindistan (%26), Çin (%8.5), Endonezya (%8.4), Filipinler (%6), Pakistan (%5.8), Nijerya (%4.6), Bangladeş (%3.6) ve Güney Afrika (%3.3)] global vakaların 2/3'sini oluşturmaktadır (Şekil 2.4.) [9].



Şekil 2.5. Dünya’da Çoğul İlaç Direçli/ Rifampisin dirençli TB (ÇİD/RR-TB) tanısı ve bildiriimi [61].

2018 yılında tüberküloz tanısı konmuş olan bireylerin %50’sinin, 2019 yılında %61’inin ve 2020 yılında %71’inin rifampisin direnci göstermekte olduğu belirtilmektedir (Şekil 2.5). Global ÇİD/RR-TB insidansı ile 2020 yılında tedavi gören kişi sayısı arasındaki global farkın %70’ini oluşturan 10 ülke (Çin, Demokratik Kongo Cumhuriyeti, Hindistan, Endonezya, Nijerya, Pakistan, Filipinler, Rusya Federasyonu, Güney Afrika ve Vietnam) bulunmaktadır [9, 61].

2.6.2. Dünya’da Tüberküloz Dışı Mikobakteriler

TDM insidans ve prevalansı, dünya çapında birçok ülkede hızlı bir şekilde artmaktadır. Bu artışın daha çok yaşlı bireyler ve altta yatan bronşektazi hastalarında olduğu bildirilmektedir. Prevalanstaki bu artışın diğeri bir nedeni olarak; çevresel, konak ve mikroorganizma gibi çoklu faktörlerden kaynaklandığından bahsetmek mümkündür [1].

ABD ve Kanada’da TDM vaka sayılarında 1990’lı yılların ortalarından beri ciddi bir artış olduğu, TDM prevalansındaki bu artışın aynı zamanda Avustralya, Asya ve Avrupa’da yapılan çalışmalarda da görüldüğü bildirilmiştir [62]. Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya’daki çalışmalar, son 20 yıl içerisinde TDM vakalarındaki artıştan bahsetmektedir. Amerika’da tahmini TDM prevalansı, 1980’lerin başında 100.000 kişide 2.4 vaka iken 2013 yılındaki artış ile her 100.000 kişide 15.2 vaka olarak açıklanmıştır [27]. Kanada’da da vaka sayısında benzer artışlar bildirilmiştir. British Columbia Center For Disease Control tarafından Şubat 2022 tarihinde yayınlanan kılavuzda, pulmoner TDM izolatlarının sayısının 2006 yılında her 100.000’de 10.47’den, 2013 yılında 11.92’ye ulaştığı ifade edilmiştir [63].

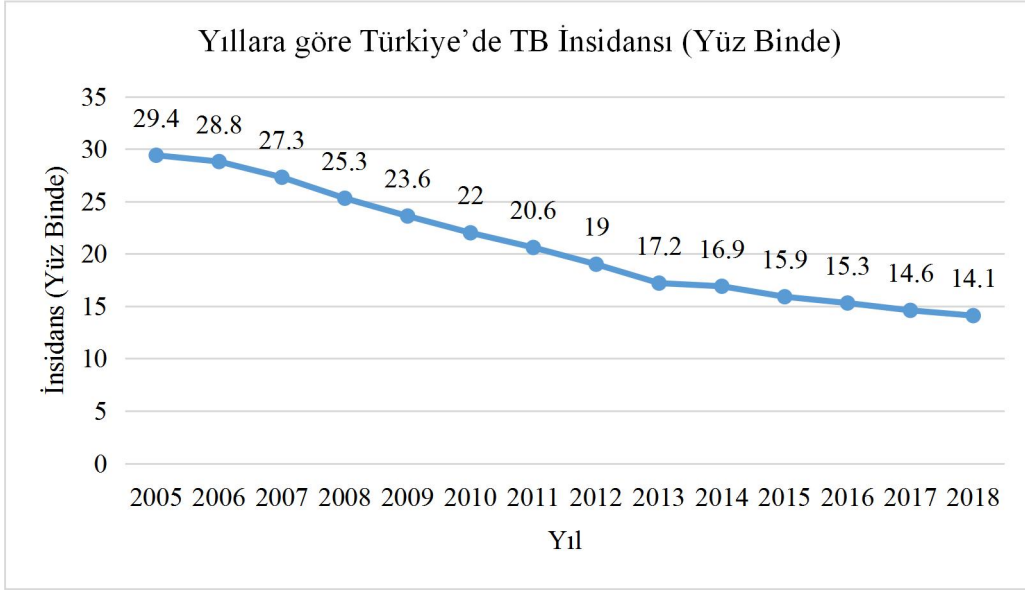
Schildkraut ve arkadaşlarının 2020 yılında yaptıkları bir çalışmaya göre beş Avrupa ülkesi için (Birleşik Krallık, İspanya, İtalya, Fransa ve Almanya) pulmoner TDM prevalansının her 100.000’de 6.2, Japonya için ise her 100.000’de 24.9 olduğu gözlemlenmiştir [64].

1991-2014 yılları arasında İran, Lübnan, Suudi Arabistan, Kuveyt, Umman ve Türkiye dahil olmak üzere altı Orta Doğu ülkesinden toplanan 1560 TDM vakasında 983 vaka ile İran ve hemen ardından 370 vaka ile Türkiye’den bahsetmek mümkündür. Türkiye’de en sık izole edilen türler arasında; *M. avium* kompleks, *M. gordonae*, *M. fortuitum*, ve *M. abscessus* yer almaktadır [65].

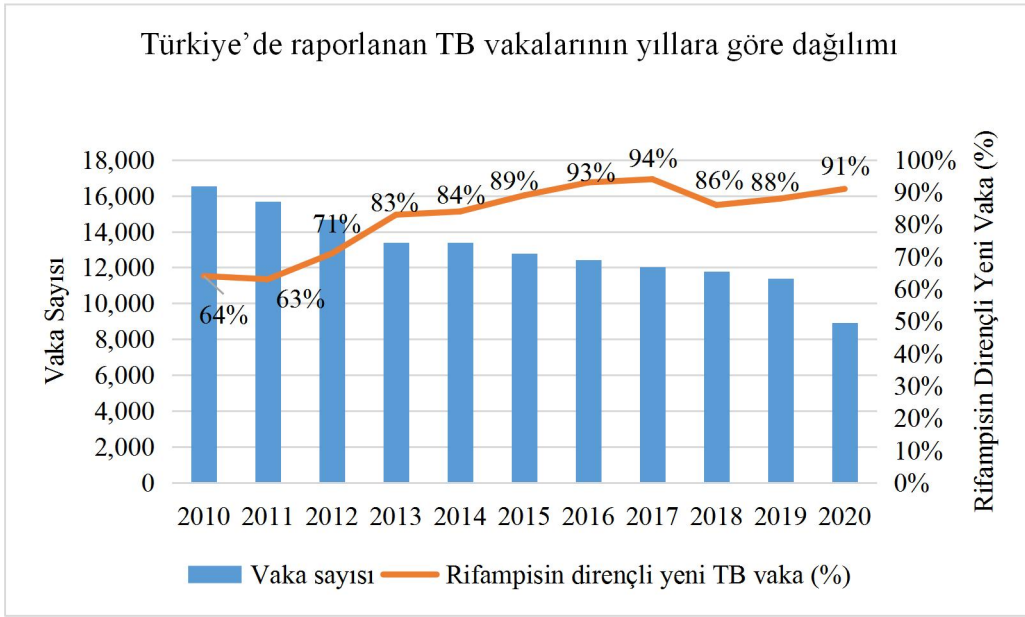
TDM enfeksiyonu, özellikle sosyoekonomik olarak düşük ülkelerde epidemiyolojik verilerin sınırlı olması gibi nedenlerle birçok ülkede fark edilebilirlik açısından zorludur. Ancak buna rağmen Dünya çapında TDM vakalarının artışından bahsedilmektedir.

2.6.3. Türkiye’de Tüberkülozun Durumu

Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Türkiye’de Verem Savaşı 2020 Raporu’na göre 2005-2018 yılları arasında Türkiye’de raporlanan yeni tüberküloz vakalarının insidansında ciddi bir düşüş görülmektedir (Şekil 2.6.) [66]. Ancak bu düşüşün yanı sıra DSÖ Global Tüberküloz 2021 Raporuna göre Türkiye’de 2010-2020 yılları arasında çoğul ilaç dirençli yeni tüberküloz vakalarında artış dikkat çekmektedir (Şekil 2.7.) [9].



Şekil 2.6. Türkiye’de 2005-2018 yılları arasında TB insidansı [66].



Şekil 2.7. Türkiye’de raporlanan yeni vaka sayısı ve rifampisin dirençli yeni vaka yüzdesi [9].

2.7. Tüberküloz Dışı Mikobakterilerde Antimikrobiyal Direnç

Tüberküloz Dışı Mikobakterilerin ilaç duyarlılığının belirlenmesinde önerilen standart metod sıvı mikrodilüsyon yöntemidir. Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) klinisyene, enfeksiyon etkeni mikroorganizmayı inhibe etmek için gerekli olan antimikrobiyal ajanın konsantrasyonu hakkında bilgi verir. Testin tekrarlanabilirliğini sağlamak ve değişken sonuçları önlemek adına dilüsyon metodu standardize edilmeli, dikkatli ve kontrollü bir biçimde uygulanmalıdır [67].

2.7.1. Mikrodilüsyon

CLSI tarafından TDM'ler için önerilen standart duyarlılık yöntemidir. Birden fazla izolatan birden fazla antimikrobiyal ilaca karşı etkinliğinin araştırılması amacıyla oldukça sık kullanılan bir metottur. Mikrodilüsyon; temel olarak steril, tek kullanımlık, U tipi mikro kuyucuklu, kapaklı pleytler kullanılarak, hedeflenen son ilaç konsantrasyonunun iki katı sulandırım yapılarak hazırlanmış antimikrobiyal ilaç ile bakteri süspansiyonunun bir araya getirilmesi esasına dayanan bir yöntemdir [68].

2.7.2. Agar Disk Elüsyonu

CLSI rehberine bakıldığında agar disk elüsyonu eskiden kullanışlı bir yöntem olarak görülmekteydi. Bu yöntemde; erimiş agar içerisine belirli miktarda ticari antimikrobiyal disklerin ilave edilerek katılaşması esasına dayalı doku kültürü pleytleri kullanılmaktadır. Duyarlılığın yorumlanması MTBC izolatları için kullanılan proporsiyon metotlarına benzemektedir. Günümüzde hala kullanılabilir olsa da inokulumun kontrol edilmesi ya da bazı antimikrobiyaller için “end point” değerinin okunmasındaki zorluklar gibi nedenlerden dolayı hızlı üreyen TDM'ler için önerilmemektedir [69].

2.7.3. Agar Disk Difüzyonu

Test edilecek organizma süspansiyonu hazırlanır. Hazırlanan süspansiyon Oleik Asit Dextrose Catslase (OADC) eklendikten sonra Petri kutularına dökülmüş ve katılaşmış Katyon Ayarlı Müller Hinton Agar üzerine yayılır. Devamında ticari antimikrobiyal diskler yerleştirilir. İnkübasyona bırakıldıktan sonra zone çizgilerine göre yorum yapılır. Uygulama kolaylığı gibi avantajlarının yanı sıra zone çizgilerinin inhibisyona uğraması gibi dezavantajları da içermektedir [69].

2.7.4. E-test

E-test yöntemi, bir MİK elde edebilmek için agar disk difüzyon metodunun kolaylığını antimikrobiyal konsantr gradient kullanımı ile birleştirir. Petri kutusunda katılaşmış agar besiyerine disk difüzyonu yöntemine benzer şekilde bakteri süspansiyonu inoküle edilir ve E-test stripi agar yüzeyine yerleştirilir. Zone çizgilerinin karşılığı olan stripteki ilaç konsantrasyonlarına göre yorumlama yapılır [69].

2.8. Dirençli Suşlara Karşı Geliştirilmekte Olan İlaçlar

Halk sağlığı uygulamalarının yetersiz olması, semptomların bireyler arasında değişkenlik göstermesi, hastalık tanısının geç konması, hastalık yönetiminin bireyler arasında hatta ülkeler arasında değişkenlik göstermesi, tedavi sürecinin uzunluğu, ilaç direnç testlerinin uygun olmayan şekilde yapılması veya hiç yapılmaması gibi sebepler tüberkülozun önlenmesi ve tedavisini zorlaştıran önemli nedenler arasında yer alır. Bunlara ek olarak dirençli mikobakteri suşlarının sayısındaki artış ve TDM'lerin doğal olarak çoklu antimikrobiallere sahip olduğu direnç nedeniyle hastaların tedavisi uzun sürebilmekte ve tedavi bazen başarısız olabilmektedir. Bu nedenle yeni ilaçların keşfi önem taşımaktadır (Tablo 2.7) [21].

Tablo 2.7. Geliştirilmekte olan antitüberküloz ilaçları.

KLİNİK DURUM	İLAÇ	SINIF	AÇIKLAMA
Faz 1	BVL-GSK098	Amido piperidine	Tüberküloz tedavisinde ethionamid ve prothionamid ile oral yoldan kombine kullanım amacıyla geliştirilmiştir. Ethionamidin biyoaktivasyon yolağı üzerinde stimüle edici etkiye sahiptir bu da ethionamidin etkinliğini arttırmaktadır [70].
	TBAJ-587	Diarilquinoline	Aynı sınıfta yer aldığı bedakulinden farklı olarak <i>M. tuberculosis</i> üzerinde geliştirilmiş etkiye sahiptir. Ayrıca bedakuline kıyasla hayvan modelleri üzerinde daha etkili, daha güvenli ve farmatokinetik açıdan daha da stabil olduğu bilinmektedir. ATP sentazın inhibisyonu ile <i>M. tuberculosis</i> enerji metabolizmasını hedeflemektedir [71].
	TBAJ-876	Diarilquinoline	Bedakulin analogudur. Bedakuline kıyasla daha stabil ve daha güvenilir olduğu düşünülmektedir [72].
	TBI-223	Oxazolidinone	Linezolid ile karşılaştırıldığında benzer aktiviteye sahiptir ancak klinik öncesi çalışmalarda daha güvenilir ve geliştirilmiş metabolik özelliklere sahip olduğu bilinmektedir [73].
	Macozinone (PBTZ-169)	Benzothiazinone	Hücre duvar sentezini inhibe edici aktiviteye sahiptir [73].
	Pyrifazimine	Riminophenazine	Klofazimin analogudur. Klofazimine kıyasla ciltte daha az renk değişimine neden olur. Ayrıca bakterisidal aktivitesinin <i>in vitro</i> 'da MTB ve TDM'ler üzerinde daha fazla olduğu bilinmektedir. Mekanizması tam aydınlatılmamış olmakla birlikte oksidatif fosforilasyon yolağında rol oynadığı düşünülmektedir [74].
Faz 2	Delpazolid	Oxazolidinone	Protein sentezi inhibisyonu yoluyla etki eden oral yolla kullanılan bir ilaçtır. Gram + bakteriler, TB ve <i>M. abcessus</i> üzerinde etkilidir [73].
	Sutezolid	Oxazolidinone	Protein sentezi inhibisyonu yoluyla etki eden direnç için oldukça yüksek etkiye sahip bir ilaçtır. Farelerle yapılan bir çalışmada linezolide kıyasla daha yüksek etkiye sahip olduğu keşfedilmiştir. Diğer birincil ilaçlarla kullanıldığında toksik etkinin daha az olduğu düşünülmektedir [75].
	Sudapyridine (WX-081)	Diarilquinoline	Bedakulin analogudur [76].
	BTZ-043	Benzothiazinone	Esansiyel mikobakteri hücre duvar sentezi enzimi olan DprE1 inhibisyonu ile etki etmektedir [73].
	TBA-7371	Azaindole	İmidazopyridine analogudur. <i>M. tuberculosis</i> DprE1 enziminin nonkovalent inhibitörüdür [77].

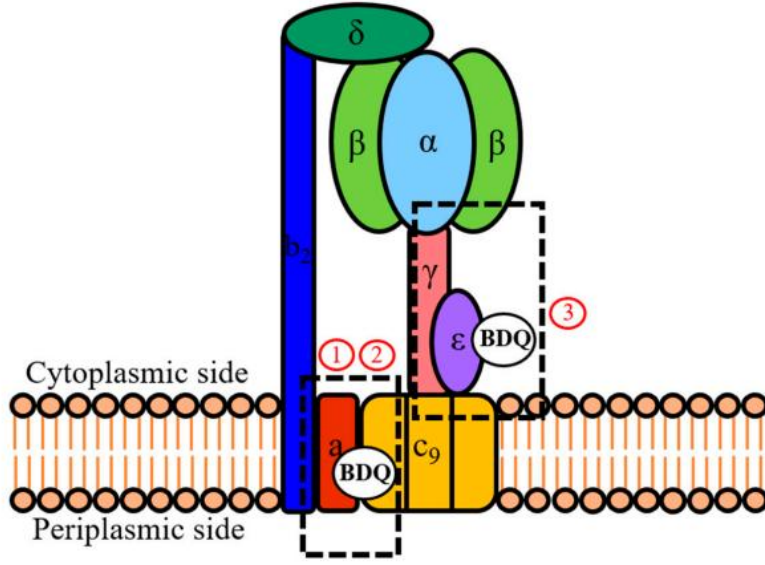
KLİNİK DURUM	İLAÇ	SINIF	AÇIKLAMA
Faz 2	OPC-167832	3,4-dihidrokarbostil türevi	BTZ-043,TBA-7371 gibi hücre duvar sentezini DprE1 enzimini inhibe ederek engellemektedir [73].
	GSK-656	Oxaborole	Lösil tRNA sentetaz inhibitörü olan ve bor barındıran bir ilaçtır [73].
	SQ-109	Etilendiamin	Etambutol analogudur. Hücre duvar sentezini ve kinon biyosentezi enzimleri olan MenA ve MenG'yi de inhibe ederek bakteriyel solunum ve elektron transferini etkilemektedir [73].
	Telacebec	Imidazopyridine amide	<i>M. tuberculosis</i> 'in hücre solunumu için terminal oksijen redüksiyonunu katalizleyen iki oksidazdan biri olan bcc:aa3'ü inhibe etmektedir [78].
	SPR-720	Benzimidazole	DNA giraz GyrB ve Topoizomeraz IV parC'yi inhibe ederek DNA sentezini engeller [73].
Faz 3	TB-Practecal ZeNix Simplici-TB Truncate TB STREAM 2	Bedakulin, pretomanid, delamanid, linezolid, moxifloksasin, pirazinamid, klofazimin ilaçlarının farklı kombinasyonlarıyla farklı süreler kullanımını içeren genellikle 4-6 aylık rejimlerdir. Uzun süren tüberküloz tedavisini kısaltmak, dirençli tüberküloz vakalarında kullanılmak üzere kısa süren tedavi rejimleri geliştirmek amacıyla klinik çalışmaları devam etmektedir [79,80].	
Onaylanmalar	Bedaquiline	Diarilquinoline	Bedakulin, diarilkinolin sınıfının ilk üyesi olan mikobakteriyel ATP sentaz proton pompası inhibitörüdür. ABD'de kullanım onayını 2012 yılında MDR-TB hastalarıyla gerçekleştirilen Faz2b çalışması ile almıştır [80].
	Delamanid	Nitroimidazole	Delamanid, mikolik asit sentezini inhibe eden serbest radikaller üreten redüktif MTB metabolizmasını hedefleyen nitroimidazol sınıfı bir ön ilaçtır [80].
	Pretomanid	Nitroimidazole	Pretomanid, mikobakteri hücresi içerisinde nitroredüksiyon ile mikolik asit sentezini inhibe eden bir nitroimidazol sınıfı ön ilaçtır. Delamanid ile kimyasal ve farmakolojik yapıları farklılık göstermektedir [80].

2.9. Bedakulin

İlaç dirençli tüberküloz vakaları hızla arttığından, farklı mekanizmalarla etki gösteren yeni ilaçların keşfi günden güne önem kazanmaktadır. Bu ilaçlardan biri olan bedakulin, 2005 yılında Koen Andries ve arkadaşları tarafından keşfedilmiş ve Sirturo ticari adı ile satışa sunulmuştur [6]. Bedakulin, diğer antitüberküloz ilaçlarından farklı bir mekanizmayla, ATP sentezinin gerçekleşmesi için mikobakteriyel ATP sentaz kompleksinin dönüşümünden sorumlu olan membran bağımlı C halkasını hedefleyerek ATP sentezini inhibe ederek etkisini gösterir (Şekil 2.8.) [57].

F₁F₀-ATP sentaz; membrana gömülü olan ve transmembran elektrokimyasal iyon gradientini kullanarak ADP-ATP dönüşümünü sağlayan bir makromoleküler protein kompleksidir. F tipi ATP sentazın membran bağımlı F₀ bölgesi, dönme hareketini sağlayan C alt birimlerinin identik kopyalarını içererek kum saati şekilli silindirik bir santral por oluşturur. Membran boyunca iyonların geçişiyle birlikte F₁ başındaki katalitik olarak aktif bölgeler harekete geçirilerek ATP oluşumu sağlanmış olur [57].

Bedakulinin direkt mekanizmasında C halkası ve ϵ alt birimi hedeflenmektedir. C halkasına bağlanma, C halkasının dönüşünü ve dolayısıyla ATP sentezini katalitik F₀ bölgesini inhibe ederek engeller. Altbirim ϵ 'na bağlanma ise alt birim içinde aminoasit ağına müdahale edilmesine neden olur. Bu müdahale, C halkasının dönüşünü engellemektedir.



Şekil: 2.8. Bedakulinin etki mekanizmasının şematik gösterimi [81].

Bedakulin temel olarak mikobakteriyel ATP sentaz enziminin proton pompası inhibitörü olarak etki etmektedir. İnsan hücreleri dahil olmak üzere diğer ökaryotik hücrelere kıyasla mikobakteriyel ATP sentaza daha spesifik olduğu yapılan çalışmalar sonucunda gözlemlenmiştir [6,82,83].

Bedakulinin, son 40 yıl içinde U.S. Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylanan tek TB ilacı olarak, TDM'lerden *M.avium* ve *M. abscessus* türlerinin klinik izolatlarına karşı 0.02 - 0.15µM arasında suşa bağlı olarak değişen minimal inhibisyon konsantrasyon değerine sahip olduğu yapılan çalışmalar sonucunda bulunmuştur [83,84].

Bedakulin'in 1. ve 2. faz çalışmaları sırasında birincil grup ilaçlara karşı dirençli olan suşlara karşı oldukça güçlü etki gösterdiği bildirilmiştir. Diacon ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada; beş ilaçlı ikincil grup ilaçlar ile kombinasyon halinde kullanımında bedakulinin, yeni tanı konmuş, yayma pozitif, ÇİD-TB hastalarında balgam kültürü dönüşümünü kısalttığı ve 8 hafta sonra negatif balgam kültürü olan hastaların oranını önemli bir ölçüde (%9'dan %48'e) arttırdığı görülmüştür. Bu çalışmayla birlikte ÇİD-TB hastalarının tedavisi için bedakulin kullanımının umut verici olduğu görülmüş ve bedakulin, 31 Aralık 2012 tarihinde FDA tarafından ÇİD-TB tedavisinde "Sirturo" ticari adıyla kullanım onayını almıştır [83,85].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu'nun 30/07/2021 tarih ve 15 sayılı kurul kararı ile Etik kurul onayını almıştır. İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda ve Düzen Laboratuvarı'nda izole edilmiş ve MALDI-TOF MS yöntemi ile tanımlanmış olan 103 adet TDM suşu retrospektif olarak çalışma kapsamına alınmıştır. Kullanılacak olan suşlar ilk olarak %10 OADC ve %0.2 gliserol eklenmiş Middlebrook 7H9 Broth besiyerine pasajlanarak 7-28 gün boyunca 37°C'de etüvde (Mermert marka) inkübe edilmiştir. Üreyen suşların bedakuline karşı duyarlılığı CLSI M24, CLSI M24 3.baskı ve CLSI M62 kılavuzlarına göre mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir [67,86,87]

Kalite kontrol amacıyla ATCC 29213 *Staphylococcus aureus* ve siprofloksasin isimli antibiyotik kullanılmıştır [87].

3.1. Kullanılan Malzemeler

TDM'lerin yeniden canlandırılmasında Middlebrook 7H9 Broth (Difco Laboratories, Detroit, USA) toz besiyeri kullanılmıştır.

3.1.1. Middlebrook 7H9 Broth Besiyeri

1 Litre Saf Su için Yaklaşık Formül

Monopotasyum Fosfat	2.0 g
Disodyum Fosfat	1.5 g
Monosodyum Glutamat	0.5 g
Sodyum Sitrat	0.1 g
Amonyum Sülfat	0.5 g
Piridoksin	0.001 g
Ferrik Amonyum Sitrat	0.04 g
Magnezyum Sülfat	0.05 g
Çinko Sülfat	0.001 g
Bakır Sülfat	0.001 g
Biyotin	0.5 mg
Kalsiyum Klorür	0.5 mg

Besiyeri ticari firmanın önerileri doğrultusunda 900ml distile su içinde 4.7 g (Radweg markalı tartı) toz olarak çözündürülmüş ve üzerine 2ml gliserol ilave edilerek 120°C’de otoklavda (HIYARAMA markalı) 15 dakika sterilize edilmiştir. Besiyeri 45°C’ye soğutulduktan sonra üzerine aseptik koşullarda 100 ml Middlebrook OADC zenginleştirici (BBL, Becton Dickinson and Company Sparks, USA) ilave edilerek kullanıma hazır hale getirilmiştir.

TDM’lerin mikrodilüsyon yöntemi ile ilaç duyarlılık deneylerinde Katyon Ayarlı Mueller Hinton Broth (KAMHB; BBL, Becton Dickinson and Company Sparks, USA) besiyeri kullanılmıştır.

3.1.2. Katyon Ayarlı Mueller Hinton Broth Besiyeri

1 Litre Saf Su için Yaklaşık Formül

Sığır Eti Ekstraktı	3.0 g
Kazein Asit Hidrolizati	17.5 g
Nişasta	1.15 g
pH 7.3 +/- 0.1	

Besiyeri ticari firmanın önerileri doğrultusunda 1000ml distile su içinde 22 g toz olarak çözündürülmüş ve 120°C’de otoklavda 15 dakika sterilize edilerek kullanıma hazır halde +4°C’de saklanmıştır.

TDM’lerin mikrodilüsyon yöntemi ile ilaç duyarlılık deneylerinde Minimal İnhibisyon Konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesinde kolorimetrik yöntem tercih edilmiş ve “Resazurin sodyum tuzu (SIGMA-Aldrich Chem, USA)” canlı hücreyi belirleyen indikatör boya olarak deneylerde kullanılmıştır [88].

3.1.3. Resazurin Sodyum Tuzu (%0.02)

1 Litre Saf Su için Yaklaşık Formül

Resazurin Sodyum Tuzu	0.2 g
-----------------------	-------

Resazurin sodyum tuzu hassas terazide (LIBROR AEG 120 marka, Shimadzu Corporation) 0.2 g olarak tartılmış 100 ml steril distile su içinde çözündürülerek, 0.2µm por çaplı selüloz asetat membran içeren enjektör filtresinden (Orange Scientific, GyroDisc CA) filtre edilerek steril hale getirilmiş ve üzerine 900 ml steril distile su ilave edilerek kullanıma hazır halde +4°C’de saklanmıştır.

3.1.4. İlaçların Hazırlanışı

İlaçların duyarlılık deneylerinde CLSI M24 3.baskı kılavuzunda bildirilmiş olan formüle göre (3-1) ilaç konsantrasyon hesaplamasının yapılması gereklidir [86].

$$\text{Ağırlık (mg)} = \frac{\text{Hacim (ml)} \times \text{Konsantrasyon } (\mu\text{g/ml})}{\text{İlaç saflığı (potensi; } \mu\text{g/mg)}} \quad 3-1$$

Bedakulin ticari toz hammadde olarak DC Chemicals firmasından temin edilmiştir. Bedakulinin TDM’ler için mikrodilüsyon yöntemi ile ilaç duyarlılık deneyinde 16-0.008µg/mL konsantrasyon aralığı kullanılmıştır [89]. CLSI M24 A2 kılavuzuna göre; mikrodilüsyon yönteminde ilacın hazırlanacak konsantrasyonu, başlangıç konsantrasyonun 2 katı olacak şekilde hazırlanmalıdır. Bedakulinin başlangıç konsantrasyonu 16 µg/mL olduğu için ilacın hazırlanması gereken konsantrasyon 64 µg/mL olmalıdır. Ancak bu miktar tartım hatalarına neden olabilecek kadar küçük bir değer olduğu için hazırlanması gereken konsantrasyonun (64 µg/mL) 100 katı olacak şekilde (6400 µg = 0.0064g) tartım yapılmıştır. Tartımı yapılan ilaç, çözücüsü olan 1000µl DMSO (Dimetil Sülfoksit) (Biomatik Company) ile sulandırılarak 6400 µg/mL’lik stok ilaç solüsyonu elde edilmiş ve -20°C’de saklanmıştır [67,86,87]. Deney aşamasında stok ilaç konsantrasyonu 1/100 oranında KAMHB besiyeri ile sulandırılarak kullanılmıştır.

Mikrodilüsyon yönteminde deney koşullarının doğruluğunu göstermek için ATCC 29213 *Staphylococcus aureus* standart suşu kullanılmış, ayrıca bu standart suşun standardize edilmiş MİK değerleri mevcut olan siprofloksasin (SIGMA-Aldrich Chem, USA) kullanılmıştır [67,86,94].

3.2. Mikrodilüsyon Yöntemi

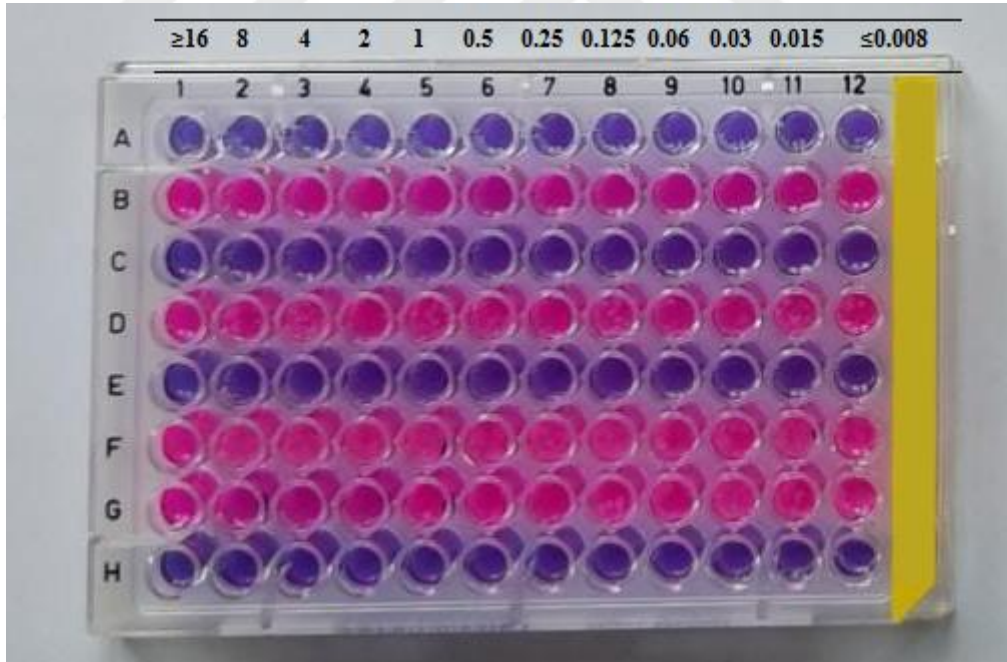
TDM'lerin mikrodilüsyon ile duyarlılık deneyinde KAMHB sıvı besiyeri ve steril, tek kullanımlık, U tipi 96 kuyucuklu pleyt kullanılmıştır. Bir pleytte 3 farklı TDM suşunun MİK değeri belirlenmiştir. Başlangıçta pleytin tüm kuyucuklarına 12 kanallı mikropipet (Eppendorf, Hamburg/Germany. Research Plus 12 kanallı mikropipet) ile 100'er µl KAMHB sıvı besiyeri dağıtılmıştır.

Bedakulin için 16-0.008µg/ml konsantrasyon aralığı kullanılmıştır. Bu nedenle hazırlanan stok ilaç konsantrasyonu 1/100 olarak KAMHB ile sulandırılarak 64µg/mL'lik kullanım konsantrasyonu elde edilmiştir. Pleytin 1 sütunundaki A, C, E kuyucuklarına 100'er µl bedakulin, G kuyucuğuna ise DMSO'in KAMHB besiyeri ile 1/100 sulandırılmış formu, DMSO kontrolü olarak, DMSO'nun bakteri üremesine etkisinin varlığını test etmek amacı ile ilave edilmiştir.

Pleytin A, C, E ve G kuyucuklarına çok kanallı mikropipet ile 1-12 yönünde seri dilüsyon uygulanmış ve 12. kuyucuktan sonra son 100 µl'lik hacim dışarıya atılmıştır. Pleyt üzerinde uygulanan seri dilüsyon ile ilacın 32-0.016 µg/ml konsantrasyon aralığı elde edilmiştir. KAMHB besiyerine pasaj yapılarak üremenin gerçekleştiği hızlı üreyen TDM süspansiyonundan temiz bir cam tüp içerisine %0.85'lik steril tuzlu su ile MacFarland 0.5 bulanıklık ayarına göre bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Hızlı üreyen TDM suşları için, 10mL KAMHB içerisine 50µl suş ilave edilerek mikrodilüsyon için bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Bu şekilde hazırlanmış bakteri süspansiyonundan 100'er µl, örneğin A ve B serisindeki 1-12 numaralı kuyucuklara ilave edilmiştir. A serisi bedakulin konsantrasyonlarını içerirken, B serisi o suşun pozitif kontrolü olarak yer almıştır. Pleyt içine 100 µl suş ilavesi sonrasında bedakulinin 16-0.008µg/ml konsantrasyon aralığı elde edilmiştir. Aynı pleyt içinde C, D ve E, F yatay serisi için farklı suşlar inoküle edilmiştir. G yatay serisi ise DMSO kontrolü ve H yatay serisi sadece besiyeri içerdiği için negatif kontrol olarak kullanılmıştır. İşlemi tamamlanan pleytlerin kapakları kapatılarak selofan bant ile bantlanmış ve 36°C'de hızlı üreyen TDM için 3 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda 30 µl resazurin eklenen pleytdeki maviden pembeye değişen renklenme 24 saat sonunda yorumlanmıştır. Aynı işlem, yavaş üreyen TDM suşları için de uygulanmış, hızlı üreyen TDM'den farklı olarak, yavaş üreyen TDM'ler için %5 OADC içeren KAMHB besiyeri kullanılmış ve pleytler aynı ısı derecesinde 10-14 gün inkübe edilmiştir. Ancak yavaş

üreten TDM'ler için deneyler iki kez tekrarlanmasına rağmen %5 OADC içeren KAMHB besiyeri ile sonuç alınamamıştır. Bu durumda literatür araştırması yapılarak böyle bir durumda Middlebrook 7H9 Broth besiyerinin kullanılabileceğini bildiren araştırmaların [90-93] önerileri doğrultusunda yavaş üreyenler için %10 OADC içeren Middlebrook 7H9 besiyeri ile kullanılmıştır. İnkübasyonun 12. gününde 30 µl resazurin eklenen pleytdeki maviden pembeye değişen renklenme 24-48 saatlik inkübasyon sonunda yorumlanmıştır.

Deney koşullarının uygunluğunun test edilmesi amacıyla, pleyt içerisine bedakulin ve örneklerin yanı sıra standart kontrol olarak kullanılan ATCC 29213 *Staphylococcus aureus* ve konsantrasyon aralığı 8-0.004 µg/mL olarak belirlenen siprofloksasin kullanılmıştır. Mikrodilüsyon yöntemi yukarıda anlatıldığı şekilde yapılmış, ancak inkübasyon süresi 24 saat olarak uygulanmıştır. İnkübasyon süresi sonunda 30 µl resazurin eklenen pleytler yaklaşık 1saatlik süre sonunda yorumlanmıştır [86,87].



Şekil 3.1. Bedakulin'in *in vitro* aktivitesinin test edilmesi için pleyt düzeni. A1-A12 ; C1-C12 ve E1-E12 kuyucuklarında bedakuline karşı üç farklı suş mikrodilüsyon çalışmasına alınmıştır. B1-B12; D1-D12 ve F1-F12 kuyucuklarında ise bu üç farklı suşun pozitif kontrolleri yer almaktadır. G1-G12 kuyucukları arasında deney koşullarının uygunluğunun test edilmesi amacıyla DMSO pozitif ve H1-H12 kuyucukları arasında ise negatif kontrol bulunmaktadır. Kullanılan MİK aralığı pleyt üzerinde belirtilmiştir.

4. BULGULAR

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda ve Düzen Laboratuvarı'nda izole edilmiş ve MALDI-TOF MS yöntemi ile tanımlanmış olan 103 adet TDM suşu retrospektif olarak çalışma kapsamına alınmıştır. Suşların dağılımı tablo 4.1'de gösterilmiştir. Kalite kontrol ve deney koşullarının uygunluğunun gösterilmesi amacıyla standart suş olarak ATCC 29213 *S.aureus* ve antibiyotik olarak siprofloksasin kullanılmıştır.

Tablo 4.1. TDM'lerin tür düzeyinde dağılımı.

TDM Grubu	TDM	Sayı
HIZLI ÜREYENLER (58)	<i>M. fortuitum</i>	28
	<i>M. abscessus</i>	21
	<i>M. chelonae</i>	3
	<i>M. peregrinum</i>	3
	<i>M. elephantis</i>	1
	<i>M. neoaurum</i>	1
	<i>M. farcinogenes</i>	1
YAVAŞ ÜREYENLER (45)	<i>M. lentiflavum</i>	16
	<i>M. gordonae</i>	8
	<i>M. avium</i>	6
	<i>M. intracellulare</i>	4
	<i>M. simiae</i>	4
	<i>M. chimaera</i>	4
	<i>M. kansasii</i>	3
TOPLAM		103

Çalışmamızda TDM suşlarının bedakuline karşı duyarlılığı mikrodilüsyon yöntemi ile kolorimetrik olarak belirlenmiştir. Kullanılan 14 farklı türdeki 103 adet TDM suşunun bedakulin'e karşı aktivitesi tablo 4.2.'de yer almaktadır.

Kalite kontrol ve deney koşullarının uygunluğunun gösterilmesi amacıyla kullanılan ATCC 29213 *S.aureus* bakterisinin siprofloksasin için verdiği MİK değeri 0.5 µg/mL olarak belirlenmiştir. Bu standart suş ve siprofloksasin için CLSI M62 kılavuzunda bildirilen kalite kontrol MİK aralığı 0.12-0.5 µg/mL olup, elde edilen sonuç kılavuzda bildirilen değer ile paralellik göstermiş ve deney koşullarının uygun olduğu saptanmıştır.

Bedakulin'in kullanılan 14 farklı türdeki 103 adet TDM suşlarına karşı etkisi Tablo 4.1.'de yer almaktadır. DSÖ'nün 2022 yılında yayınladığı "Optimized broth microdilution plate methodology for drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* complex" isimli kılavuz [94] ve EUCAST'ın bedakulin için 2019 yılında yayınladığı yönergeye göre MTBC için önerilen kritik konsantrasyon değeri 0.25 mg/L olarak bildirilmiş ve MİK değerinin ≤ 0.25 mg/L için duyarlı, >0.25 mg/L için ise dirençli olarak yorumlanması gerektiği ifade edilmiştir. Literatürde TDM ile ilgili bildirilen kritik konsantrasyon/ MİK breakpoint değeri bulunmadığı için, bedakulinin TDM'lere karşı etkisinin değerlendirilmesinde MTBC için önerilen kritik konsantrasyon değerleri kullanılmıştır. Çalışmamızda bedakulin için test edilen tüm yavaş üreyen TDM suşlarının MİK değerinin ≤ 0.008 µg/ml olduğu saptanmıştır. Hızlı üreyen TDM suşlarında da benzerlik bulunduğu görülmüştür. Ancak hızlı üreyen TDM'lerden *M. fortuitum* (7/28), *M. abscessus* (5/21) ve *M. chelonae* (3/3) suşlarında MİK değerinin ≥ 16 µg/mL olduğu saptanmıştır. *M. elephantis* ise bedakuline karşı 4 µg/mL değerinde MİK göstermiştir (Tablo.4.2).

Tablo 4.2. Bedakulin'in 58 Hızlı üreyen ve 45 Yavaş üreyen Tüberküloz Dışı Mikobakteri'ye karşı MİK değerleri.

	Türler	Sayı (n)	Bedakuline karşı MİK değerleri (µg/mL)										
			≥16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03	0.015
HIZLI ÜREYEN TDM	<i>M. fortuitum</i>	28	7										21
	<i>M. abscessus</i>	21	5					1		4		2	9
	<i>M. chelonae</i>	3	3										
	<i>M. peregrinum</i>	3											3
	<i>M. elephantis</i>	1			1								
	<i>M. neoaurum</i>	1											1
	<i>M. farcinogenes</i>	1											1
YAVAŞ ÜREYEN TDM	<i>M. lentiflavum</i>	16											16
	<i>M. gordonae</i>	8											8
	<i>M. avium</i>	6											6
	<i>M. intracellulare</i>	4											4
	<i>M. simiae</i>	4											4
	<i>M. chimaera</i>	4											4
	<i>M. kansasii</i>	3											3

MTBC grubunda bedakuline için kılavuzların önerdiği kritik konsantrasyon/ MİK breakpoint değeri >0.25 mg/L üzerinde dirençli olarak kabul edildiği için, çalışmamızda TDM'lerde >0.25 µg/ml üzerinde MİK veren suşlar bedakuline karşı dirençli olarak kabul edilmiştir (Tablo.4.3). Bedakuline karşı yavaş üreyen TDM'lerin tamamı (45; %100) duyarlı bulunurken, hızlı üreyen TDM'lerin 42'si (%72.4) duyarlı, 16'sı (%27.6) ise kılavuzlara göre dirençli olarak yorumlanmıştır.

Tablo 4.3. TDM'lerin bedakuline karşı gösterdiği duyarlılık oranları.

Mikroorganizma Sayı (%)	MİK kritik noktaları($\mu\text{g/mL}$)	
	Duyarlı $\leq 0.25 \mu\text{g/mL}$ Sayı (%)	Dirençli $>0.25 \mu\text{g/mL}$ Sayı (%)
Hızlı Üreyen TDM 58 (56.3)	42 (72.4)	16 (27.6)
Yavaş Üreyen TDM 45 (43.7)	45 (100)	-
TOPLAM 103 (100)	87 (84.5)	16 (15.5)

Yapılan çalışmalarda, MİK50 ve MİK90 değerlerinin gerçek sonuçları yansıtabilmesi için çalışma gruplarının büyük sayıda örnek içermesi gerektiğini (>30 örnek), daha az örnek içeren gruplarda MİK50 ve MİK90 değerlerinin hesaplanmasında, örnek sayısının azlığı nedeniyle MİK değerlerinin orantısız dağılım gösterdiğini bildirilmiştir [95]. Buna göre, yaptığımız çalışmada bazı suşların MİK50 ve MİK90 değerleri arasında orantısız dağılım görülmektedir. Bu durum az sayıda örnek kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Sonuç olarak *M. fortuitum* ve *M. abscessus* için hesaplanan MİK90 değerleri gerçeği tam anlamıyla yansıtmamaktadır (Tablo 4.4.).

Tablo 4.4. Bedakulin'in TDM'ye karşı MİK 50 ve MİK 90 değerleri.

Türler		Sayı(n)	MİK ARALIĞI (µg/mL)	MİK 50	MİK 90
HIZLI ÜREYEN TDM	<i>M. fortuitum</i>	28	16 µg/mL - 0.008 µg/mL	0.008	16
	<i>M. abscessus</i>	21		0.015	16
	<i>M. chelonae</i>	3		16	-
	<i>M. peregrinum</i>	3		0.008	-
	<i>M. elephantis</i>	1		-	-
	<i>M. neoaurum</i>	1		-	-
	<i>M. farcinogenes</i>	1		-	-
YAVAŞ ÜREYEN TDM	<i>M. lentiflavum</i>	16	16 µg/mL - 0.008 µg/mL	0.008	0.008
	<i>M. gordonae</i>	8		0.008	0.008
	<i>M. avium</i>	6		0.008	0.008
	<i>M. chimaera</i>	4*		0.008	-
	<i>M. intracellulare</i>	4		0.008	-
	<i>M. simiae</i>	4		0.008	-
	<i>M. kansasii</i>	3		0.008	-

*Suş sayısı ≥ 5 olanlar için MİK 50 ve MİK 90; 3 ve 5 arası olanlar için yalnızca MİK 50 hesaplanmıştır. Suş sayısı < 3 olanlar için ise MİK 50 ve MİK 90 değerleri hesaplanmamıştır.

5. TARTIŞMA

Tüberküloz dışı mikobakteriler, Dünya çapında farklı koşullar altında her türlü ortamda yaşamını sürdürebilen mikroorganizmalardır. İnsanlarda vücudun her bölgesinde enfeksiyona oluşturabilme potansiyeline sahiptir [96]. Bu mikroorganizmalar, çok çeşitli çevresel koşullarda yaşayabilmesi, standart bakteriyel kültür ortamında üretilmemesi, çeşitli antibiyotik/dezenfektanlara karşı direnci ve sahip oldukları önemli virulans faktörleri ile canlılığını sürdürebilmektedir [27].

TDM'lerin tedavisinin doğru bir şekilde sürdürülebilmesi için doğru tanı son derece önemlidir. Doğru tanı testlerinin yapılamaması, özellikle tüberkülozun yaygın olduğu ülkelerde TDM'nin *M. tuberculosis* ile ayrımını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, TDM'lerin tanısında, Amerikan Toraks Cemiyeti ve Amerikan Enfeksiyöz Hastalıklar Cemiyeti'nin 2007 yılında yayınladıkları rehberine göre anamnez, radyografi ve mikrobiyolojik testlerin birleşimi önem taşımaktadır [5]. Klinik tanı, balgamdan alınan en az iki pozitif kültür varlığı, bronkoskopik yıkama/ lavaj ile bir pozitif kültür ya da TDM için bir pozitif kültür içeren transbronşiyal / akciğer biyopsisi ile doğrulanabilmektedir [5]. Aside dirençli boyama, örnekte mikobakteri varlığını doğrular niteliktedir ancak tek başına *M. tuberculosis* ve TDM ayrımı için yetersizdir [5,46].

TDM'lerin tanısında altın standart kültür olarak belirtilmektedir. Kültür için katı ya da sıvı kültür ortamları tercih edilebilmektedir. Sıvı besiyerleri, en çok tercih edilen sistemler arasında yer almaktadır. Sıvı kültür sistemlerinin yanı sıra katı kültür sistemleri de tercih edilmektedir. Önerilen katı besiyerleri genellikle Löwenstein-Jensen gibi yumurta temelli ya da Middlebrook 7H10, 7H11 gibi agar temellidir. Agar temelli katı besiyerleri aynı zamanda antimikrobiyal duyarlılık testlerinde de kullanılmaktadır [5]. Yapılan çalışmalar sıvı kültür sistemlerinin daha hassas ve TDM'lerin saptanmasındaki gecikmeyi en aza indirdiğini ancak diğer mikroorganizmalar tarafından kontaminasyona daha açık olduğunu göstermektedir [39,41,97].

TDM'lerin gösterdiği antimikrobiyal direnç profilleri türden türe farklılık gösterebildiğinden dolayı kesin tür tayini ve ilaç duyarlılık testlerinin yapılması uygun

tedavinin seçilmesi önemli rol oynamaktadır. CLSI M24-A2 ve ATS-IDSA kılavuzlarına göre antimikrobiyal direnç saptanmasında en uygun yöntemin broth mikrodilüsyon olduğu belirtilmiştir [5,67]. TDM'lerin tedavisi amacıyla standartlara göre çoğunlukla uzun süreli ve çoklu kombinasyonlarla antimikrobiyal kullanımı önerilmektedir. TDM'ler, sahip oldukları kalın ve geçirgen olmayan hücre duvar yapısı, biyofilm ve granülom oluşturmaları gibi virulans faktörleri sayesinde doğal olarak antimikrobiyallere direnç gösterdikleri gibi kazanılmış direnç mekanizmaları yoluyla da antimikrobiyallere direnç gösterebilmektedir. Bu gibi mekanizmaların varlığı genellikle TDM enfeksiyonlarının tedavisinde uzamış antibiyotik rejimlerinin uygulanması ile ilişkilendirilmektedir [3].

Dünya çapında TDM olgu sayısındaki artış ve bununla doğrudan ilişkili olan TDM'lerdeki doğal ve kazanılmış direnç sorunu nedeniyle hali hazırda kullanılmakta olan antibiyotiklere olan duyarlılığın azalmış olması, yeni ve etkin ilaç modellerinin tasarlanıp uygulanmasına olan gerekliliği bir kez daha ortaya koymaktadır. Diarilkinolin sınıfında yer alan Bedakulin bu ilaçlardan biri olarak klinik kullanımda yerini almıştır. Kullanımda olan diğer antitüberküloz ilaçlarından farklı olarak bedakulin, mikobakteriyel ATP sentezinin inhibisyonu yoluyla etkisini göstermektedir. Diacon ve arkadaşları 2009 yılında yaptıkları faz 2 çalışmasında bedakulinin, birincil grup olarak adlandırılan ilaçlara karşı dirençli olan suşlarda oldukça yüksek bir etkinlik gösterdiğini bildirmiştir [83,85]. Andries ve arkadaşları 2005 yılında yayınladıkları çalışmalarında *M. fortuitum*, *M. abscessus*, *M. kansasii* gibi TDM suşları üzerinde de bedakulinin aktivitesinin var olduğunu ifade etmiştir [6].

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda ve Düzen Laboratuvarı'nda izole edilmiş ve MALDI-TOF MS yöntemi ile tanımlanmış olan 103 adet TDM suşunun bedakuline karşı *in vitro* aktivitesi araştırılmıştır. EUCAST tarafından 2019 yılında yayınlanan kılavuza göre, bedakulin için mikrodilüsyon yönteminde kullanılacak olan MİK aralığı 0.008-16 µg/ml olarak bildirilmiş ve çalışmamızda bu MİK aralığı kullanılmıştır. Bedakulinin TDM'lere karşı etkinliğinin araştırıldığı diğer çalışmalarda da bu MİK aralığının kullanıldığı görülmüştür [7, 89, 98, 99].

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2022 yılında ve EUCAST'ın bedakulin için 2019 yılında yayınladığı yönergeye göre MTBC için önerilen kritik konsantrasyon 0.25 mg/L olarak

bildirilmiş ve MİK değeri ≤ 0.25 mg/L için duyarlı, >0.25 mg/L için ise dirençli olarak yorumlanması gerektiği ifade edilmiştir [89,94]. Çalışmamızda, TDM ile ilgili bildirilen kritik konsantrasyon/ MİK breakpoint değeri bulunmadığı için MTBC için önerilen kritik konsantrasyon değerleri kullanılmıştır. Çalışmamızda bedakuline karşı test edilen tüm yavaş üreyen TDM suşlarının MİK değerinin ≤ 0.008 $\mu\text{g/mL}$ 'nin altında olduğu saptanmıştır. Hızlı üreyen TDM suşlarında da benzerlik bulunduğu görülmüştür. Yu ve arkadaşlarının [7] 2019 yılında yaptıkları çalışma ile kendi çalışmamız karşılaştırıldığında, yavaş üreyen TDM'ler için sonuçlarımız ile uyumluluk bulunduğu ve MİK değerlerinin ≤ 0.008 $\mu\text{g/mL}$ olduğu görülmüştür. Çalışmamızda, hızlı üreyen TDM'lerden *M. fortuitum* (7/28), *M. abscessus* (5/21) ve *M. chelonae* (3/3) suşlarında MİK değerinin ≥ 16 $\mu\text{g/mL}$ olduğu saptanmıştır. *M. elephantis* ise bedakuline karşı 4 $\mu\text{g/mL}$ değerinde MİK göstermiştir. Yu ve arkadaşlarının [7] hızlı üreyen TDM'ler ile aldıkları sonuç çalışmamızla uyumlu olup, aynı tür TDM suşlarında >0.25 $\mu\text{g/mL}$ MİK değeri bildirmiştir.

Martin ve arkadaşlarının 2019 yılında yavaş üreyen TDM'lerle yaptıkları çalışmalarında suşların bedakuline karşı duyarlı olduğu bildirmiştir [90]. Destefano ve arkadaşlarının 2018'de yavaş üreyen TDM'lerle yaptıkları çalışmalarında, çalışmamızla benzer MİK sonuçları bildirmiştir [98]. Sonuç olarak çalışma kapsamında yavaş üreyen TDM'lerle elde ettiğimiz MİK değerleri diğer çalışmalarla paralellik göstermiştir [90,98].

Bedakuline karşı yavaş üreyen TDM'lerin tamamı (41; %100) duyarlı bulunurken, hızlı üreyen TDM'lerin 42'si (%72.8) duyarlı, 16'sı (%27.2) ise kılavuzlara göre dirençli olarak yorumlanmıştır.

CLSI M24 A2 kılavuzunda, mikrodilüsyon yönteminde hızlı üreyen suşlar için Katyon Ayarlı Müeller Hinton Broth (KAMHB) ve yavaş üreyen suşlar için %5 OADC+ KAMHB besiyerinin kullanımı önerilmiştir. Ancak yaptığımız çalışmalarda yavaş üreyen suşlarda sonuç alınamamış ve konu ile ilgili literatür araştırması yapılmıştır. Yapılan araştırmada özellikle yavaş üreyen TDM'ler için mikrodilüsyon yönteminde KAMHB yerine Middlebrook 7H9 besiyerinin tercih edildiğinin görülmesi üzerine çalışmamızda yavaş üreyen TDM'ler için Middlebrook 7H9 besiyeri kullanılmıştır. Çalışmamızda yavaş üreyen TDM'ler için Middlebrook 7H9 besiyeri kullanıldığında sonuçların KAMHB'den daha net olarak gözlemlendiği sonucuna varılmış ve bu gözlemimiz diğer çalışmalarla da doğrulanmıştır [90,91,92,93].

Bedakuline karşı direnç gelişiminin, dünya çapında yaygın görülen TDM'lerden *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. abscessus*, *M. flavescens*, *M. massiliense* ve *M. fortuitum* suşlarında *atpE*, *pepQ* ve *nmpT5* genlerinde mutasyon ile bağlantılı olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır [99,100,101,102].

Sonuç olarak, bedakulinin yavaş üreyen TDM'ler üzerinde *in vitro* aktivitesinin hızlı üreyenlere kıyasla umut verici olduğu, hızlı üreyen TDM suşlarında saptanan direncin moleküler düzeyde gen araştırması yapılmasını gerektirdiği ve böylece hızlı üreyen TDM'lerin bedakuline karşı direnç mekanizmalarının aydınlatılabileceği düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Daley CL, Iaccarino JM, Lange C, et al. Treatment of Nontuberculous Mycobacterial Pulmonary Disease: An Official ATS/ERS/ESCMID/IDSA Clinical Practice Guideline [published correction appears in Clin Infect Dis. 2020 Dec 31;71(11):3023]. *Clin Infect Dis*. 2020;71(4):e1-e36. doi:10.1093/cid/ciaa241
2. Zhou Y, Mu W, Zhang J, et al. Global prevalence of nontuberculous mycobacteria in adults with non-cystic fibrosis bronchiectasis 2006–2021: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* 2022;12:e055672. doi:10.1136/bmjopen-2021-055672
3. Saxena, S.; Spaink, H.P.; Forn-Cuní, G. Drug Resistance in Nontuberculous Mycobacteria: Mechanisms and Models. *Biology* 2021, 10, 96. <https://doi.org/10.3390/biology10020096>
4. Ryu YJ, Koh WJ, Daley CL. Diagnosis and Treatment of Nontuberculous Mycobacterial Lung Disease: Clinicians' Perspectives. *Tuberc Respir Dis (Seoul)*. 2016;79(2):74-84. doi:10.4046/trd.2016.79.2.74.
5. Griffith, D. E. et.al., ATS Mycobacterial Diseases Subcommittee, American Thoracic Society, & Infectious Disease Society of America (2007). An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 175(4), 367–416. <https://doi.org/10.1164/rccm.200604-571ST>
6. Andries K, Verhasselt P, Guillemont J, Göhlmann HW, Neefs JM, Winkler H, Van Gestel J, Timmerman P, Zhu M, Lee E, Williams P, de Chaffoy D, Huitric E, Hoffner S, Cambau E, Truffot-Pernot C, Lounis N, Jarlier V. A diarylquinoline drug active on the ATP synthase of Mycobacterium tuberculosis. *Science*. 2005 Jan 14;307(5707):223-7. doi: 10.1126/science.1106753. Epub 2004 Dec 9. PMID: 15591164.
7. Yu X, Gao X, Li C, et al. *In Vitro* Activities of Bedaquiline and Delamanid against Nontuberculous Mycobacteria Isolated in Beijing, China. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019;63(8):e00031-19. Published 2019 Jul 25. doi:10.1128/AAC.00031-19
8. *Tuberculosis (TB)*. (2021, October 14). World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>

9. Global tuberculosis report 2021. Geneva: World Health Organization; 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
10. Daniel TM. The history of tuberculosis. *Respir Med.* 2006 Nov;100(11):1862-70. doi: 10.1016/j.rmed.2006.08.006. Epub 2006 Sep 1. PMID: 16949809.
11. Koch, A., & Mizrahi, V. (2018). *Mycobacterium tuberculosis*. *Trends in Microbiology*, 26(6), 555–556. doi:10.1016/j.tim.2018.02.012
12. Brites D, Loiseau C, Menardo F, Borrell S, Boniotti MB, Warren R, Dippenaar A, Parsons SDC, Beisel C, Behr MA, Fyfe JA, Coscolla M and Gagneux S (2018) A New Phylogenetic Framework for the Animal-Adapted *Mycobacterium tuberculosis* Complex. *Front. Microbiol.* 9:2820. doi: 10.3389/fmicb.2018.02820.
13. Brooks, G. F., Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. (2016). *Jawetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology* (27th edition.). New York : London: McGraw-Hill Medical ; McGraw-Hill.
14. Gordon SV, Parish T. Microbe Profile: *Mycobacterium tuberculosis*: Humanity's deadly microbial foe. *Microbiology (Reading)*. 2018 Apr;164(4):437-439. doi: 10.1099/mic.0.000601. Epub 2018 Feb 21. PMID: 29465344.
15. Ghazaei C. *Mycobacterium tuberculosis* and lipids: Insights into molecular mechanisms from persistence to virulence. *J Res Med Sci* 2018;23:63
16. Echeverria-Valencia, G., Flores-Villalva, S., & I.Espitia, C. (2017). Virulence Factors and Pathogenicity of *Mycobacterium*. In (Ed.), *Mycobacterium - Research and Development*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.72027>
17. Tăbăran AF, Matea CT, Mocan T, et al. Silver Nanoparticles for the Therapy of Tuberculosis. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:2231-2258. Published 2020 Mar 31. doi:10.2147/IJN.S241183
18. Conrad WH, Osman MM, Shanahan JK, et al. Mycobacterial ESX-1 secretion system mediates host cell lysis through bacterium contact-dependent gross membrane disruptions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114(6):1371-1376. doi:10.1073/pnas.1620133114
19. Forrellad MA, Klepp LI, Gioffré A, et al. Virulence factors of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Virulence*. 2013;4(1):3-66. doi:10.4161/viru.22329
20. Bottasso, O., Bay, M. L., Besedovsky, H., & del Rey, A. (2007). *The Immuno-endocrine Component in the Pathogenesis of Tuberculosis*. *Scandinavian Journal of Immunology*, 66(2-3), 166–175. doi:10.1111/j.1365-3083.2007.01962.x

21. Russell DG, Barry CE 3rd, Flynn JL. Tuberculosis: what we don't know can, and does, hurt us. *Science*. 2010;328(5980):852-856. doi:10.1126/science.1184784
22. Smith I. Mycobacterium tuberculosis pathogenesis and molecular determinants of virulence. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16(3):463-496. doi:10.1128/CMR.16.3.463-496.2003
23. Harvey RA, Cornelissen CN. *Lippincott Illustrated Reviews: Microbiology*. 3rd ed., ISBN:908-1-60831-733-2, Lippincott Williams and Wilkins; 2011.
24. Johnson MM, Odell JA. Nontuberculous mycobacterial pulmonary infections. *J Thorac Dis*. (2014) 6:210–20. doi: 10.3978/j.issn. 2072-1439.2013.12.24
25. Tortoli E. (2003). Impact of genotypic studies on mycobacterial taxonomy: the new mycobacteria of the 1990s. *Clinical microbiology reviews*, 16(2), 319–354. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.2.319-354.2003>
26. *Nontuberculous Mycobacteria (NTM) Infections | HAI | CDC*. (2019, August 12). Centers for Disease Control and Prevention. Retrieved April 10, 2022, from <https://www.cdc.gov/hai/organisms/nontuberculous-mycobacteria.html>
27. Ratnatunga CN, Lutzky VP, Kupz A, Doolan DL, Reid DW, Field M, Bell SC, Thomson RM and Miles JJ (2020) The Rise of Non-Tuberculosis Mycobacterial Lung Disease. *Front. Immunol*. 11:303. doi: 10.3389/fimmu.2020.00303.
28. Gopaldaswamy R, Shanmugam S, Mondal R, Subbian S. Of tuberculosis and non-tuberculous mycobacterial infections - a comparative analysis of epidemiology, diagnosis and treatment. *J Biomed Sci*. 2020;27(1):74. Published 2020 Jun 17. doi:10.1186/s12929-020-00667-6
29. Sarro YD, Kone B, Diarra B, et al. Simultaneous diagnosis of tuberculous and non-tuberculous mycobacterial diseases: Time for a better patient management. *Clin Microbiol Infect Dis*. 2018;3(3):10.15761/CMID.1000144. doi:10.15761/CMID.1000144
30. Runyon, E. H. 1959. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. *Med. Clin. North Am*. 43:273–290
31. Pereira AC, Ramos B, Reis AC, Cunha MV. Non-Tuberculous Mycobacteria: Molecular and Physiological Bases of Virulence and Adaptation to Ecological Niches. *Microorganisms*. 2020;8(9):1380. Published 2020 Sep 9. doi:10.3390/microorganisms8091380

32. Ferrell KC, Johansen MD, Triccas JA and Counoupas C (2022) Virulence Mechanisms of *Mycobacterium abscessus*: Current Knowledge and Implications for Vaccine Design. *Front. Microbiol.* 13:842017. doi: 10.3389/fmicb.2022.842017
33. Jia L, Sha S, Yang S, Taj A, Ma Y. Effect of Protein O-Mannosyltransferase (MSMEG_5447) on *M. smegmatis* and Its Survival in Macrophages. *Front Microbiol.* 2021;12:657726. Published 2021 Jun 30. doi:10.3389/fmicb.2021.657726
34. Le Moigne V, Belon C, Goulard C, et al. MgtC as a Host-Induced Factor and Vaccine Candidate against *Mycobacterium abscessus* Infection. *Infect Immun.* 2016;84(10):2895-2903. Published 2016 Sep 19. doi:10.1128/IAI.00359-16
35. George KM, Chatterjee D, Gunawardana G, et al. Mycolactone: a polyketide toxin from *Mycobacterium ulcerans* required for virulence. *Science.* 1999;283(5403):854-857. doi:10.1126/science.283.5403.854
36. Sharma, I.M., Petchiappan, A. and Chatterji, D. (2014), Quorum sensing and biofilm formation in mycobacteria: Role of c-di-GMP and methods to study this second messenger. *IUBMB Life*, 66: 823-834. <https://doi.org/10.1002/iub.1339>
37. Cruz-Aguilar, M, Castillo-Rodal, AI, Arredondo-Hernández, R, López-Vidal, Y. Non-tuberculous mycobacteria immunopathogenesis: Closer than they appear. a prime of innate immunity trade-off and NTM ways into virulence. *Scand J Immunol.* 2021; 94:e13035. <https://doi.org/10.1111/sji.13035>
38. Koliwer-Brandl, H, Knobloch, P, Barisch, C, et al. Distinct *Mycobacterium marinum* phosphatases determine pathogen vacuole phosphoinositide pattern, phagosome maturation, and escape to the cytosol. *Cellular Microbiology.* 2019; 21:e13008. <https://doi.org/10.1111/cmi.13008>
39. Centers for Disease Control and Prevention, Core Curriculum on Tuberculosis: What the Clinician Should Know, Publication Number: 21-1092, 7th ed. 2021.
40. American Thoracic Society: Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1376-1395.
41. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Laboratory Detection and Identification of Mycobacteria.* 2nd ed. CLSI guideline M48 (ISBN 978-1-68440-019-5) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2018.

42. WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 3: diagnosis - rapid diagnostics for tuberculosis detection, 2021 update. Geneva: World Health Organization; 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
43. Eddabra R, Ait Benhassou H. Rapid molecular assays for detection of tuberculosis. *Pneumonia (Nathan)*. 2018;10:4. Published 2018 May 25. doi:10.1186/s41479-018-0049-2
44. Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi, 2019, T.C. Sağlık Bakanlığı, Sağlık Bakanlığı Yayın No:1129, ISBN:ISBN: 978-975-590-717-8, Ankara, Mayıs 2019.
45. Wieser A, Schneider L, Jung J, Schubert S. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics-identification of microorganisms and beyond (mini review). *Appl Microbiol Biotechnol*. 2012;93(3):965-974. doi:10.1007/s00253-011-3783-4
46. Brown-Elliott, B.A. (2019). Laboratory Diagnosis and Antimicrobial Susceptibility Testing of Nontuberculous Mycobacteria. In: Griffith, D. (eds) Nontuberculous Mycobacterial Disease. Respiratory Medicine. Humana Press, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-93473-0_2
47. Centers for Disease Control and Prevention, Tuberculosis. March 20,2016. Erişim tarihi: 16.04.2022, Erişim: <https://www.cdc.gov/tb/topic/basics/default.htm>
48. Jnawali, H. N. , & Ryoo, S. (2013). First– and Second–Line Drugs and Drug Resistance. In B. H. Mahboub, & M. G. Vats (Eds.), Tuberculosis - Current Issues in Diagnosis and Management. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/54960>
49. Bardou, F, Raynaud, C, Ramos, C, Laneelle, M. A, & Laneelle, G. Mechanism of isoniazid uptake in Mycobacterium tuberculosis. *Microbiology* 1998. , 144(Pt 9), 2539–44
50. Tuberculosis, Volume 88, Issue 2, 2008, ISSN 1472-9792, [https://doi.org/10.1016/S1472-9792\(08\)70011-8](https://doi.org/10.1016/S1472-9792(08)70011-8).
51. Sun, Q., Li, X., Perez, L., Shi, W., Zhang, Y., & Sacchetti, J. (2020). The molecular basis of pyrazinamide activity on Mycobacterium tuberculosis PanD. *Nature Communications*, 11. doi:10.1038/s41467-019-14238-3
52. Pontali E, Raviglione MC, Migliori GB, et al. Regimens to treat multidrug-resistant tuberculosis: past, present and future perspectives. *Eur Respir Rev* 2019; 28: 190035 <https://doi.org/10.1183/16000617.0035-2019>.
53. World Health Organization. The STOP-TB strategy. Geneva, World Health Organization, 2006.

54. WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 4: Treatment – drug-resistant tuberculosis treatment. Geneva: World Health Organization; 2021 (<https://www.who.int/publications/i/item/9789240007048>).
55. Caminero JA, ed. Guidelines for Clinical and Operational Management of Drug-Resistant Tuberculosis. Paris, France: International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, 2013.
56. Tiberi, S., Scardigli, A., Centis, R., D'Ambrosio, L., Muñoz-Torrico, M., Salazar-Lezama, M. Á. et.al. (2017). Classifying new anti-tuberculosis drugs: rationale and future perspectives. *International Journal of Infectious Diseases*, 56, 181–184. doi:10.1016/j.ijid.2016.10.026
57. Preiss, L., Langer, J. D., Yildiz, Ö., Eckhardt-Strelau, L., Guillemont, J. E., Koul, A., & Meier, T. (2015). Structure of the mycobacterial ATP synthase Fo rotor ring in complex with the anti-TB drug bedaquiline. *Science advances*, 1(4), e1500106. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500106>
58. Mahajan R. Bedaquiline: First FDA-approved tuberculosis drug in 40 years. *Int J App Basic Med Res* 2013;3:1-2.
59. Singh B, Cocker D, Ryan H, Sloan DJ. Linezolid for drug-resistant pulmonary tuberculosis. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2019, Issue 3. Art. No.: CD012836. DOI: 10.1002/14651858.CD012836.pub2.
60. Li XZ, Zhang L, Nikaido H. Efflux pump-mediated intrinsic drug resistance in *Mycobacterium smegmatis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(7):2415-2423. doi:10.1128/AAC.48.7.2415-2423.2004.
61. WHO, Global Maps on the diagnosis and notification of rifampicin-resistant TB. Erişim tarihi: 16.04.2022, Erişim: www.who.int/tb/data
62. Daniel-Wayman S, Abate G, Barber DL, et al. Advancing Translational Science for Pulmonary Nontuberculous Mycobacterial Infections. A Road Map for Research. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019;199(8):947-951. doi:10.1164/rccm.201807-1273PP
63. BC Centre for Disease Control (BCCDC), Tuberculosis Physician Manual Section 12: Pulmonary Non-Tuberculous Mycobacteria (NTM), February 2022.
64. Schildkraut JA, Gallagher J, Morimoto K, et al. Epidemiology of nontuberculous mycobacterial pulmonary disease in Europe and Japan by Delphi estimation. *Respir Med*. 2020;173:106164. doi:10.1016/j.rmed.2020.106164

65. Farnia P, Farnia P, Ghanavi J, Velayati AA. Epidemiological distribution of nontuberculous mycobacteria using geographical information system. In: Nontuberculous Mycobacteria (NTM). Academic Press:Elsevier; 2019. p. 191-321
66. Türkiye’de Verem Savaşı 2020 Raporu, T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 1205, ISBN: 978-975-590-821-2, Ankara, 2021.
67. CLSI. Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardiae, and Other Aerobic Actinomycetes; Approved Standard—Second Edition. CLSI document M24-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011.
68. Schwalbe, R., Steele-Moore, L., & Goodwin, A.C. (Eds.). (2007). Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols (1st ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420014495>
69. Brown-Elliott BA, Nash KA, Wallace RJ Jr. Antimicrobial susceptibility testing, drug resistance mechanisms, and therapy of infections with nontuberculous mycobacteria. *Clin Microbiol Rev.* 2012;25(3):545-582. doi:10.1128/CMR.05030-11
70. Deprez, B., Bosc, D., Charton, J., et.al. (2021). Molecular Design in Practice: A Review of Selected Projects in a French Research Institute That Illustrates the Link between Chemical Biology and Medicinal Chemistry. *Molecules*, 26(19). doi:10.3390/molecules26196083.
71. Xu J, Converse PJ, Upton AM, Mdluli K, Fotouhi N, Nuermberger EL. 2021. Comparative efficacy of the novel diarylquinoline TBAJ-587 and bedaquiline against a resistant Rv0678 mutant in a mouse model of tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother* 65:e02418-20.
72. Sutherland, H. S., Tong, A., Choi, P. J., Blaser, A., Conole, D., Franzblau, S. G., Lotlikar, M. U., Cooper, C. B., Upton, A. M., Denny, W. A., & Palmer, B. D. (2019). 3,5-Dialkoxypyridine analogues of bedaquiline are potent antituberculosis agents with minimal inhibition of the hERG channel. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 27(7), 1292–1307. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.02.026>.
73. Butler, M.S., Paterson, D.L. Antibiotics in the clinical pipeline in October 2019. *J Antibiot* 73, 329–364 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41429-020-0291-8>
74. Zhang Y, Zhu H, Fu L, et al. Identifying Regimens Containing TBI-166, a New Drug Candidate against *Mycobacterium tuberculosis* *In Vitro* and *In*

- Vivo. Antimicrob Agents Chemother.* 2019;63(7):e02496-18. Published 2019 Jun 24. doi:10.1128/AAC.02496-18
75. Migliori, G. B., & Zumla, A. (2017). *Antituberculosis Agents. Infectious Diseases, 1264–1276.e2.* doi:10.1016/b978-0-7020-6285-8.00148-9
76. Yao, R., Wang, B., Fu, L., Li, L., You, K., Li, Y. G., & Lu, Y. (2022). Sudapyridine (WX-081), a Novel Compound against Mycobacterium tuberculosis. *Microbiology spectrum, 10(1),* e0247721. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02477-21>
77. Robertson GT, Ramey ME, Massoudi LM, et al. Comparative Analysis of Pharmacodynamics in the C3HeB/FeJ Mouse Tuberculosis Model for DprE1 Inhibitors TBA-7371, PBTZ169, and OPC-167832. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021;65(11):e0058321. doi:10.1128/AAC.00583-21
78. Hards K, Cheung CY, Waller N, et al. An amiloride derivative is active against the F1Fo-ATP synthase and cytochrome bd oxidase of Mycobacterium tuberculosis. *Commun Biol.* 2022;5(1):166. Published 2022 Feb 24. doi:10.1038/s42003-022-03110-8
79. Nyang'wa BT, Kloprogge F, Moore DAJ, et al. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of investigational regimens' drugs in the TB-PRACTECAL clinical trial (the PRACTECAL-PKPD study): a prospective nested study protocol in a randomised controlled trial. *BMJ Open.* 2021;11(9):e047185. Published 2021 Sep 6. doi:10.1136/bmjopen-2020-047185
80. Black TA, Buchwald UK. The pipeline of new molecules and regimens against drug-resistant tuberculosis. *J Clin Tuberc Other Mycobact Dis.* 2021;25:100285. Published 2021 Nov 5. doi:10.1016/j.jctube.2021.100285
81. Sarathy JP, Gruber G, Dick T. Re-Understanding the Mechanisms of Action of the Anti-Mycobacterial Drug Bedaquiline. *Antibiotics (Basel).* 2019 Dec 11;8(4):261. doi: 10.3390/antibiotics8040261. PMID: 31835707; PMCID: PMC6963887.
82. Haagsma AC, Podasca I, Koul A, Andries K, Guillemont J, et al. (2011) Probing the Interaction of the Diarylquinoline TMC207 with Its Target Mycobacterial ATP Synthase. *PLoS ONE* 6(8): e23575. doi:10.1371/journal.pone.0023575
83. Branco FS, Pinto AC, Boechat N. An update on the chemistry and medicinal chemistry of novel antimycobacterial compounds. *Curr Top Med Chem* 2013;13:2808-49

84. Wu, M. L., Aziz, D. B., Dartois, V., & Dick, T. (2018). NTM drug discovery: status, gaps and the way forward. *Drug discovery today*, 23(8), 1502–1519. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.04.001>
85. Diacon, A. H., Pym, A. et.al. (2009). The diarylquinoline TMC207 for multidrug-resistant tuberculosis. *The New England journal of medicine*, 360(23), 2397–2405. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0808427>
86. CLSI. Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardia spp., and Other Aerobic Actinomycetes. 3rd ed. CLSI standard M24. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018
87. CLSI. Performance Standards for Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardia spp., and Other Aerobic Actinomycetes. 1st ed. CLSI supplement M62. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
88. Jadaun GP, Agarwal C, Sharma H, et al. Determination of ethambutol MICs for Mycobacterium tuberculosis and Mycobacterium avium isolates by resazurin microtitre assay. *J Antimicrob Chemother.* 2007;60(1):152-155. doi:10.1093/jac/dkm117
89. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Bedaquiline: Rationale for the clinical breakpoints, version number 1.0, 2019. Erişim: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Rationale_documents/190704_Bedaquiline_rational_document.pdf. Erişim Tarihi: 10.05.2023
90. Martin A, Godino IT, Aguilar-Ayala DA, Mathys V, Lounis N, Villalobos HR. *In vitro* activity of bedaquiline against slow-growing nontuberculous mycobacteria. *J Med Microbiol.* 2019;68(8):1137-1139. doi:10.1099/jmm.0.001025
91. Kaniga K, Hasan R, Jou R, et al. Bedaquiline Drug Resistance Emergence Assessment in Multidrug-Resistant Tuberculosis (MDR-TB): a 5-Year Prospective *In Vitro* Surveillance Study of Bedaquiline and Other Second-Line Drug Susceptibility Testing in MDR-TB Isolates. *J Clin Microbiol.* 2022;60(1):e0291920. doi:10.1128/JCM.02919-20
92. van Ingen J, Boeree MJ, van Soolingen D, Mouton JW. Resistance mechanisms and drug susceptibility testing of nontuberculous mycobacteria. *Drug Resist Updat.* 2012;15(3):149-161. doi:10.1016/j.drup.2012.04.001

93. Heidarieh P, Mirsaeidi M, Hashemzadeh M, et al. *In Vitro* Antimicrobial Susceptibility of Nontuberculous Mycobacteria in Iran. *Microb Drug Resist.* 2016;22(2):172-178. doi:10.1089/mdr.2015.0134
94. Optimized broth microdilution plate methodology for drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis complex. Geneva: World Health Organization; 2022.
95. Schwarz S, Silley P, Simjee S, et al. Editorial: assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(4):601-604. doi:10.1093/jac/dkq037
96. Cowman S, et al., The antimicrobial susceptibility of non-tuberculous mycobacteria, *J Infect* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2015.12.007>
97. Schlossberg, D. L. (Ed.). (2017). *Tuberculosis and nontuberculous mycobacterial infections*. John Wiley & Sons.
98. DeStefano MS, Shoen CM and Cynamon MH (2018) Therapy for Mycobacterium kansasii Infection: Beyond 2018. *Front. Microbiol.* 9:2271. doi: 10.3389/fmicb.2018.02271
99. Pang Y, Zheng H, Tan Y, Song Y, Zhao Y. *In Vitro* Activity of Bedaquiline against Nontuberculous Mycobacteria in China. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(5):e02627-16. Published 2017 Apr 24. doi:10.1128/AAC.02627-16
100. Tarashi S, Siadat SD, Fateh A. Nontuberculous Mycobacterial Resistance to Antibiotics and Disinfectants: Challenges Still Ahead. *Biomed Res Int.* 2022;2022:8168750. Published 2022 Feb 26. doi:10.1155/2022/8168750
101. D. C. Alexander, R. Vasireddy, S. Vasireddy et al., "Emergence of mmpT5 variants during bedaquiline treatment of Mycobacterium intracellulare lung disease," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 55, no. 2, pp. 574–584, 2017.
102. D. A. Aguilar-Ayala, M. Cnockaert, E. André et al., "Journal of Medical Microbiology *In vitro* activity of bedaquiline against rapidly growing nontuberculous mycobacteria," vol. 66, no. 8, pp. 1140–1143, 2017.

BEDAKULİN'İN TÜBERKÜLOZ DIŞI MİKOBAKTERİLERE KARŞI IN VİTRO ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

% **8**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **7**

İNTERNET KAYNAKLARI

% **4**

YAYINLAR

% **3**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 3
2	archive.org İnternet Kaynağı	<% 1
3	openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
4	Submitted to Istanbul University ÖĐrenci Ödevi	<% 1
5	epubs.surrey.ac.uk İnternet Kaynağı	<% 1
6	pdffox.com İnternet Kaynağı	<% 1
7	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	Submitted to Ankara University ÖĐrenci Ödevi	<% 1
9	www.akademikbilgisistemi.com İnternet Kaynağı	<% 1