



T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇOKLU İLACA DİRENÇLİ *Mycobacterium tuberculosis*
İZOLATLARINDA DELAMANİD, LİNEZOLİD ve TEDİZOLİD' e
KARŞI İLAÇ DUYARLILIKLARININ MİKRODİLÜSYON
YÖNTEMİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Funda ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL

İKİNCİ DANIŞMAN

Prof. Dr. Gülnur TARHAN

Gaziantep

2021

T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇOKLU İLACA DİRENÇLİ *Mycobacterium tuberculosis* İZOLATLARINDA
DELAMANİD, LİNEZOLİD ve TEDİZOLİD' e KARŞI İLAÇ
DUYARLILIKLARININ MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİ İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Funda ŞAHİN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL

İKİNCİ DANIŞMAN
Prof. Dr. Gülnur TARHAN

Gaziantep

2021

T.C.
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇOKLU İLACA DİRENÇLİ *Mycobacterium tuberculosis* İZOLATLARINDA
DELAMANİD, LİNEZOLİD ve TEDİZOLİD' e KARŞI İLAÇ
DUYARLILIKLARININ MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİ İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ

Funda ŞAHİN

Tez Savunma Tarihi: 18.06.2021

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

Doç. Dr. Davut Sinan KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışmasının bir “Yüksek Lisans” derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Gülnur TARHAN

İl. Tez Danışmanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

İmzası

Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL

Prof. Dr. Gülnur TARHAN

Prof. Dr. Yasemin ZER

Prof. Dr. Fahriye EKŞİ

Prof. Dr. Ayşen BAYRAM

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Funda ŞAHİN



TEŞEKKÜR

Eğitim ve öğrenim hayatıma beraber başladığım, eğitimim boyunca gerekli tüm bilgi ve becerilerini özveri ile şahsıma aktaran tez danışmanlarım hocam sayın Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL ve hocam sayın Prof. Dr. Gülnur TARHAN'a en derin saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, her türlü bilgi ve desteğini benden esirgemeyen hocam sayın Prof. Dr. Yasemin ZER, hocam sayın Prof. Dr. Fahriye EKŞİ ve hocam sayın Dr. Öğretim Üyesi Deniz GAZEL'e sonsuz saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her evresinde yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her zaman bana sonsuz insanlık bilincini aktaran, sonsuz güvenen, hayatımın her anında bana büyük gurur kaynağı olan canım annem Elhan ŞAHİN, canım babam Mehmet ŞAHİN ve biricik canım kardeŐlerim Tuba ŞAHİN AKGÜMÜŐ, Fatma ŞAHİN ve Mustafa ŞAHİN'e en derin sevgilerimi sunarım.

Her zorluğumda bana nefes olan ve desteklerini esirgemeyen Özgöl BEYAZKOŐ, Nur KARABACAK, Feyza YOSUNKAYA, BüŐra ZENCİRCİ, Hülya YILMAZ, Yücehan YILMAZ ve Serap AĐDAĐ'a ayrı ayrı sonsuz minnet ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	iiiv
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLO LİSTESİ.....	vii
RESİMLER LİSTESİ.....	viii
ÖZET	1
ABSTRACT.....	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER.....	1
2.1.Tarihçe	1
2.2. Mikobakterilerin Mikrobiyolojik Özellikleri	5
2.3.Antijenik Yapı Ve Virulans Faktörleri.....	9
2.4. Mikobakteriyel Lipidler	10
2.5. Patogenez	11
2.5.2. Enfeksiyon, Çoğalma ve Yayılma (2-3 Hafta)	12
2.6. Klinik.....	13
2.7. Epidemiyoloji	15
2.8. Tüberküloz İlaçlarının Etki Mekanizmaları Ve Anti-TB İlaçlar	20
2.9.Direnç Mekanizması	27
2.10. Anti-TB İlaçlarında İlaç Direnç Tanımları	28
2.11. Korunma Ve Kontrol.....	29
2.12. Tüberküloz Tanı Yöntemleri	30
2.13. Duyarlılık Yöntemleri.....	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1. Middlebrook 7H9 Broth Besiyerinin Hazırlanması	39
3.2. Rezasurinin Hazırlanması.....	39
3.3. McFarland Hazırlanması	40
3.4. İlaç Stok Solüsyonunun Hazırlanması.....	40
3.5. İzolatların Yeniden Canlandırılması	41
3.6. Preparatların Ehrlich Ziehl Neelsen (EZN) Metodu ile Boyanması.....	42

3.7. Rezasurin testi	43
4. BULGULAR	48
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	52
6. KAYNAKLAR	59
7. ÖZGEÇMİŞ	70
8. EKLER	71
Ek 1. Etik Kurul Onay	71



KISALTMALAR

AC	Akciğer
ADC Enrichment	Albümin Dektroz Katalaz Zenginleştiricisi
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
ATP	Adenozin trifosfat
ARB	Aside Dirençli Boyama
BaCl ₂	Baryum klorür
BGC	Bacillus Calmette Guerin
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CFP-10	Kültür filtrat proteini-10
CFU	Coloni Oluşturan Birim
ÇİD-TB	Çoklu İlaç Dirençli Tüberküloz
DGTS	Doğrudan Gözetimli Tedavi Stratejisi
DGTS- Artı	Doğrudan Gözetimli Tedavi Stratejisi-Artı
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ESAT-6	Erken salgılayan antijenik hedef-6
ETM	Etambütol
H ₂ SO ₄	Hidrojen sülfat
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IL-12	İnterlökin 12
INF- α	İnterferon alfa
INF- γ	İnterferon gama
İDT	İlaç Duyarlılık Testi
İNH	İzoniazid

LAM	Lipoarabinomannan
LJ	Löwenstein – Jensen
MAC	Mycobacterium avium kompleks
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MTBK	<i>Mycobacterium tuberculosis kompleks</i>
OT	Old Tuberkülin
PIM	Fosfatidil İnozitol Mannozyd
PZD	Pirazinamid
RİF	Rifampisin
RNA	Ribo Nükleik Asit
RPT	Rifapentin
STR	Streptomisin
TB	Tüberküloz
TDM	Tüberküloz Dışı Mikobakteri
Th 1	T helper 1
TLR-2	Toll-like reseptör 2
UV	Ultraviyole
XDR	Extremely Drug Resistant

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2. 1. YİD-TB olguları (2).....	4
Şekil 2. 2. Mikobakterilerin şematik sınıflandırılması	5
Şekil 2. 3. Mikobakterilerin genel özellikleri (22).....	6
Şekil 2. 4. Mikobakteri hücre duvar yapısı	8
Şekil 2. 5. Mikobakteri hücre duvarı porin kanal yapısı.....	9
Şekil 2. 6. Toplam TB Olgularının Yaş Gruplarına ve Cinsiyete Göre Olgu Hızları, 2017 (42).....	18
Şekil 2. 7. Ükelere Göre Tahmini TB İnsidans Hızları, 2017 (42).....	18
Şekil 2. 8. Ükelere Göre Yeni Tüberküloz Olgularında R-RIF/ÇİD-TB Oranı, 2017 (42).....	19
Şekil 2. 9. Ükelere Göre Önceden Tedavi Görmüş Tüberküloz Olgularında R-RIF/ÇİD- TB Oranı, 2017 (42).....	19
Şekil 2. 10. Yeni, Önceden Tedavi Görmüş ve Tüm Olgularda ÇİD-TB Sayıları, 2005- 2017 (42).....	20
Şekil 2. 11. Bedaquilinin Etki Mekanizması	25
Şekil 2. 12. Delamanidin kimyasal yapısı (63).....	27
Şekil 2. 13. Mikobakteri hücre duvar yapısında delamanidin etki ettiği bölge (64).....	27
Şekil 3. 1. Testin şematik gösterimi (Anti-TB pleytindeki antibiyotiklerin konsantrasyonları DLM: 1-0,008 mg/ml, LZD: 1-0,008 mg/L, TZD: 1-0,008 mg/mşekilde çalışılmıştır. Kısatmalar DLM, delamanid; LZD, linezolid; TZD, tedizolid).....	45

TABLO LİSTESİ

Tablo 2. 1. Tüberküloz tedavisinde kullanılan anti-TB ilaçlar	21
Tablo 3. 1. McFarland Türbidite Standardı No: 0,5	40
Tablo 3. 2. Hazırlanan Anti-TB İlaçlarının Çözücüsü ve Konsantrasyonu	41
Tablo 4. 1. Çalışılan izolatların MIC değerleri	48
Tablo 4. 2. Çalışılan izolatların MIC değerlerinin sayısı.....	50



RESİMLER LİSTESİ

Resim 3. 1. McFarland değerleri (Bir numaralı tüp McFarland No: 0.5, iki numaralı tüp McFarland No: 1.0 ve üç numaralı tüp McFarland No: 2.0)	40
Resim 3. 2. LJ Besiyerinde üreme durumu.....	42
Resim 3. 3. Boyaması yapılan suşların mikroskopi görüntüsü.....	43
Resim 3. 4. İnkübasyon öncesi pleytin kapatılması (Steril yapışkanlı film ile kaplanarak ve steril kilitli poşete konulmuştur)	44
Resim 3. 5. Plakta üreme görüntüsü	45
Resim 3. 6. Rezasurin Eklemek İçin Kilitli Poşetlerde Bulunan Pleytlerin biyogüvenlik kabini' den Çıkartılması.....	46
Resim 3. 7. Rezasurin eklenmiş pleyt görünümü	46
Resim 3. 8. Kritik konsantrasyonlarının belirlenmesi (A: DLM 0,016 mg/ml, B: LZD 008 mg/L,C: TZD <0,008 mg/ml)	47
Resim 3. 9. Çalışmanın sonlandırılması	47
Resim 4. 1. EZN Boyaması Yapılan Kültürlerin Mikroskopi Görüntüleri.....	48

ÖZET

ÇOKLU İLACA DİRENÇLİ *Mycobacterium tuberculosis* İZOLATLARINDA DELAMANİD, LİNEZOLİD ve TEDİZOLİD' e KARŞI İLAÇ DUYARLILIKLARININ MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Funda ŞAHİN

Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Tekin KARSLIĞİL

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gülnur TARHAN

70 Sayfa, Haziran 2021

Tüberküloz (TB) özellikle gelişmekte olan ülkelerde önemli bir halk sağlığı problemidir. Çok ilaca dirençli (ÇİD) *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) izolatları kontrol programları için önemli bir sorun olmaktadır. Bu nedenle, ÇİD-MTB izolatlarının tanısı, ve duyarlılık testleri için yeni, hızlı ve ucuz testlere gereksinim vardır. Yaygın ilaca dirençli tüberkülozun (YİD-TB) ortaya çıkışı ile Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), tüberküloz kontrolünün ve mikobakteri laboratuvarlarının güçlendirilmesine, ÇİD-TB hastalarının tedavilerine özen gösterilmesine, yeterli anti-TB ilaç teminine, TB bulaşmasının önlenmesine, yeni anti-TB ilaç ve tanı araçlarının geliştirilmesine oldukça önem vermiştir. Günümüzde TB'nin ilaç duyarlılık testleri için konvansiyonel, ticari bazlı antibiyotik duyarlılık testleri ve hızlı tanı sağlayan moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Ancak konvansiyonel yöntemlerin zaman alması ve standardizasyonunda sıkıntılar bulunmaktadır. Ticari sistemlerin ise pahalı olması, hem hızlı sonuç verecek hem de standardizasyonu kolay olan yeni tanı yöntemleri üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Çeşitli indikatör belirteçler kullanılarak yapılan kolorimetrik mikrodilüsyon testleri, antitüberküloz ilaç duyarlılık testleri hızlı ve duyarlı bir şekilde yapılarak, dirençli tüberküloz olguları tanımlanabilmektedir. Çalışmada ÇİD-TB tedavisinde kullanılan DLM, LZD ve TZD ilaç duyarlılığı rezasurinin mikrotitre test yöntemi ile araştırıldı. Çalışmadaki 42 izolatın; DLM' in duyarlılığı 0,5- <0,008 mg/mL, LZD duyarlılığı ise 13 izolat 0,125 mg/L, 14 izolat \leq 0,008 mg/L ve bir izolat dirençli bulundu. TZD ilacının Türkiyede ilk duyarlılık çalışmasını yapmış olmakla birlikte; 10 izolatı 0,063 mg/mL, 19 izolatın duyarlılığını <0,008 mg/mL olarak tespit edildi. Elde edilen bulgular doğrultusunda MGIT yöntemi ile henüz çalışılmayan ikinci seçenek anti-TB ilaçların duyarlılığının bu yöntemle belirlenmesinin hızlı ve güvenilir olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: ÇİD MTB, Delamanid, Linezolid, REMA, Tedizolid

ABSTRACT

EVALUATION OF DRUG SENSITIVITY AGAINST DELAMANID, LINEZOLID and TEDİZOLID IN MULTI DRUG RESISTANT *Mycobacterium tuberculosis* ISOLATIONS BY MICRODILUTION METHOD

Funda ŞAHİN

Master Thesis, Gaziantep University Health Sciences Institute

Department of Medical Microbiology

Supervisor: Prof. Dr. Tekin KARSLIĞİL

Supervisor: Prof. Dr. Gülnur TARHAN

70 pages, June 2021

Tuberculosis is an important public health problem especially in developing countries. Multi drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates that are resistant to at least rifampicin (RIF) and isoniazid (INH) are an important problem for control programs. Therefore, to make determination, diagnosis and safe susceptibility tests of MDR-TB isolates; new, fast and inexpensive tests are needed. With the appearance of widespread drug-resistant tuberculosis, World Health Organization (WHO) gives an importance to strengthened the control of tuberculosis and mycobacteriology laboratories, to take care of treating multidrug-resistant tuberculosis patients, to provide adequate antituberculosis medication, prevention of tuberculosis transmission and the development of new antituberculosis drugs and diagnosis tools. Nowadays, convectional, commercial based antibiotic susceptibility tests and rapid molecular diagnosis methods are used for drug susceptibility tests of TB. Nevertheless, long time taking convational methods and the standardization of this methods can cause some problems. Conversely, studies are continuing on new diagnostic methods that are expensive for commercial systems, provide fast results and are easy to standardize. Colorimetric microdilution tests were made using various indicator reagents, antituberculosis drug susceptibility tests in fast and sensitive, resistant tuberculosis can be defined. In the study 42 isolates; DLM sensitivity was found to be 0.5-<0.008 mg/mL, LZD sensitivity was 13 isotylals 0.125 mg/L, 14 isotylals \leq 0,008 mg/L and one isotylat resistant. Although we carried out the first sensitivity study of the drug Tedizolid in Turkey, we determined the sensitivity of 10 isolates 0.063 mg/mL and 19 isolates <0,008 mg/mL. According this findings, it was determined that the sensitivity of second-line anti-TB drugs, which could'nt be studied with the MGIT method yet, was fast and reliable.

Keywords: MDR-TB, Delamanid, Linezolid,REMA, Tedizolid

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tüberküloz (TB), insanlığın varoluşundan bu yana *Mycobacterium tuberculosis kompleks* (MTBK) adı verilen bir grup mikobakteri tarafından oluşturulan kronik bir hastalıktır. Yeni geliştirilen tanı ve tedavi yöntemlerindeki ilerlemelere rağmen, halen dünyada ve ülkemizde önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir (1).

Tüm dünya nüfusunun yaklaşık üçte biri MTB ile enfekte olduğu kabul edilmekte ve her yıl 3 milyon kişinin hastalıktan ölümü ile sonuçlanmaktadır. Mortalite ve morbiditenin artmasındaki en önemli neden, tanı koymada yaşanan güçlükler, etkili tedavi planlamasında ve uygulamasında yaşanan sıkıntılardır (2).

TB, erişkinlerde HIV/AIDS'den (Human Immunodeficiency Virus/Acquired Immuno Deficiency Syndrome) sonra en çok ölüme neden olan hastalıklardan biridir. TB'nin önemli bir halk sağlığı sorunu olmasındaki en önemli nedenler arasında HIV/AIDS olgularının artması, sosyoekonomik düzeyin düşük olması, sınır ötesi gerçekleştirilen göçler, kontrol programların göz ardı edilmesi sayılmaktadır (3).

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) önerdiği tedavi protokolü; rifampisin (RIF), izoniazid (INH), pirazinamid (PZD), streptomisin (STR) veya etambutolden (ETM) oluşan kombine çoklu ilaç tedavisidir. Suşlar arasındaki majör ilaçlara karşı gelişen ilaç dirençleri, tedavi protokollerini başarısız yönde etkilemiştir. DSÖ tüm bunlara bağlı olarak, tüberküloz kontrol programlarını gözden geçirmiş, hızlı tanı yöntemlerinin validasyonlarını tamamlamak, doğrudan ilaç uygulamasını yaygınlaştırmak, izole edilen basillerin direnç tayinini gerçekleştirmek için tedavi protokollerinin yeniden düzenlemesi şartı ile 2025 yılına kadar TB'nin kontrol altına alınmasını öngörmüştür (2).

MTBK basillerinin özelliklerinden dolayı hiç tedavi almamış olgularda (primer) ve tedavi alan olgularda (sekonder) zamanla gelişen direnç önemlidir. Çok ilaca dirençli tüberküloz (ÇİD-TB), tüberkülozun birincil tedavisinde kullanılan en az iki majör ilaç olan RIF ve INH karşı direnç gelişmesi durumudur. Bunun yanında yaygın ilaca dirençli

tüberkülozda (YİD-TB) ise kinolon grubundan ve parenteral yol ile verilen ikinci seçenek ilaçlardan birine karşı da direncin eklenmesidir (4).

TB'un kontrol programındaki, aktif olguların tespiti, MTB'nin izolasyonu, tiplendirilmesi ve ilaç direncinin saptanması gibi önemli basamakların sağlanmasında mikobakteriyoloji laboratuvarlarına önemli görevler düşmektedir. Klasik tanı yöntemleri, önemlerini devam ettirmesine rağmen, daha duyarlı ve hızlı tanı yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır (3). Bununla birlikte CDC (Centers for Diseases Control and Prevation); YİD-TB ve ÇİD-TB suşlarının yayılmasının engellenmesi için, dirençli suşlara karşı yeni ve daha etkili anti-TB ilaçların ve daha duyarlı ve hızlı tanı yöntemlerin geliştirilmesi gerekliliğine dikkat çekmiştir. Bu amaçla CDC;

- Hastalardan alınan örneklerin kültüründe izole edilen MTBK suşlarında,
- Üç aylık kombine tedaviden sonra yayılma ve kültür pozitifliği devam edenlerde,
- Tüm tedavilere rağmen klinik cevap alınamayan hastalardan izole edilen suşlarda duyarlılık testinin yapılmasının önemini vurgulamıştır.

Belirtilen olgularda duyarlılıkların saptanması ile;

- İlaça dirençli suşların daha hızlı tespiti,
- Tespit edilen olguların daha etkin tedavisi,
- ÇİD-TB yayılımının minimuma indirilmesi ve ülkelerde uygun halk sağlığı programlarının belirlenmesi mümkün olmaktadır (4).

Direnç sorununun küresel boyutlara ulaşması, ilaca dirençli TB kontrol programlarının düzenlenmesini daha önemli hale getirmiştir. DSÖ bu amaçla; ÇİD-TB insidansının yüksek olduğu ülkelerde ikinci kuşak ilaçlara antibiyogram yapılmasını zorunlu kılmıştır. Bu konuda yayınlanmış uluslararası makalelerde, 2006 yılından itibaren özellikle riskli ülkeler başta olmak üzere dünyanın çeşitli bölgelerinde ÇİD-TB oranının gün geçtikçe yoğunlaştığı görülmektedir. Buna bağlı olarak ikinci seçenek ilaçlara karşı da direnç gelişmesi, tedavide yeni ilaç kombinasyonlarının geliştirilmesini ve kullanımını zorunlu hale getirmektedir. Bu amaçla DSÖ'nün önerileri doğrultusunda tüm dünyada yeni ilaç arayışları ve tedavi düzenlemeleri konusunda yoğun çalışmalar başlatılmıştır. Günümüzde bu olgularda tedavi seçeneği olarak son on yıldır tedizolid,

linezolid, delamanid, bedaquilin, gatifloksasine vb. gibi ilaçlar kullanılmaktadır. Literatürde bu ilaçlara da zaman içerisinde direnç geliştiği belirtilmektedir.

Direnç durumunun belirlenmesi ve tedavinin yönlendirilmesinde duyarlılık testlerinin yapılması kritik önem taşımaktadır. Günümüzde ilaç duyarlılık testleri için, konvansiyonel, ticari bazlı antibiyotik duyarlılık testleri ve hızlı tanı sağlayan moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Ancak konvansiyonel yöntemler uzun zaman almakta ve standardizasyonunda sıkıntılar bulunmaktadır. Ticari sistemlerin ise pahalı olması, hızlı sonuç veren ve standardizasyonu kolay olan yeni tanı yöntemleri üzerindeki çalışmaları artırmıştır.

Etkin ve hızlı bir tedavinin sağlanabilmesi için antimikobakteriyel ajanlara karşı hızlı duyarlılık testlerinin kullanıma girmesi gerekmektedir. Bactec MGIT 960 sisteminin, standart agar dilüsyon testine oranla, rutin kullanımda en çok çalışılan yöntem olduğu görülmektedir. Bunun yanında indikatör belirteçlerinin kullanıldığı kolorimetrik yöntemler de, uygulanması kolay, hızlı ve ucuz metodlar olması nedeniyle özellikle gelişmekte olan ülkelerde rutin kullanıma girmeye başlamıştır.

Elde edilen bulgular, kolorimetrik yöntemlerin, dirençli suşların ve ikinci seçenek antimikobakteriyel ilaçlara karşı duyarlılığın belirlenmesinde pratik ve hızlı testler olarak kullanım alanı bulabileceğine işaret etmektedir. Bu testlerin ve tüberküloz tedavisinde yeni ve ucuz ilaç adaylarının özellikle düşük gelir düzeyine sahip ülkelerde yaygınlaştırılması, pahalı tanısal sistemlere duyulan ihtiyacı da azaltacaktır. Bu çalışma, ÇİD-TB tedavisinde kullanılan delemanid, linezolid ve tedizolid gibi antitüberküloz ilaçlara karşı duyarlılığın, rezasurin mikrodilüsyon testi ile değerlendirilmesi amacı ile yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Tarihçe

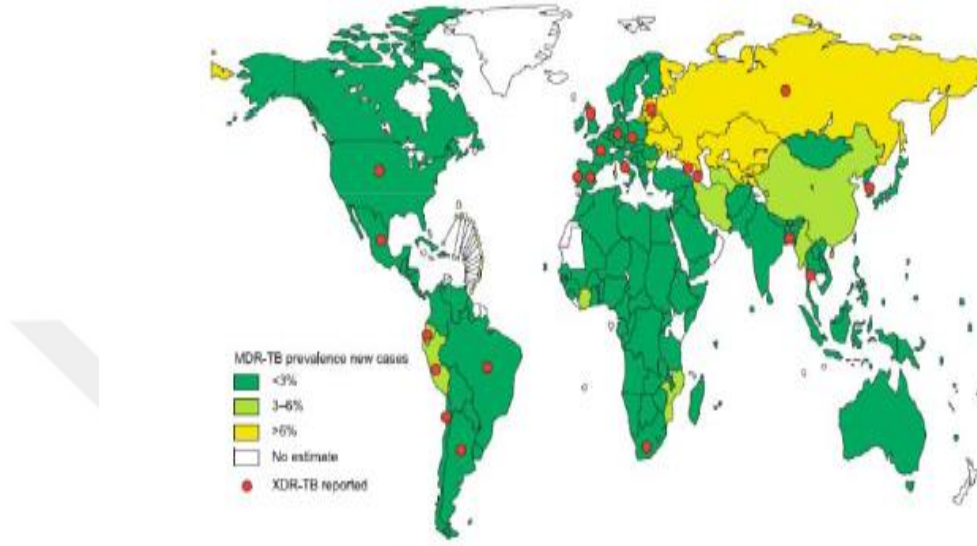
Tüberküloz hakkındaki bilgiler insanlık tarihi kadar eski olmakla birlikte, ilk bilgiler MÖ 3000 yıllarda Nil nehri kıyısında bulunan Dra Abu-El Naga isimli kasabada yaşanmıştır. Buradaki ilk bilgiler ölen genç bir kızın kanlı balgam çıkarması ile öğrenilmiştir (kaynakça eklenecek Rothman). Pott's apnesi (vertebra TB) hastalığının izlerine MÖ 8000 yıllarda rastlanması, o dönemlerde TB'un epidemiler yaptığını akıllara getirmiştir (5). Nil nehri vadisinde MÖ 1500-500 ve MÖ 500-0 yılları arasında iki büyük epidemi yaptığı kaydedilmiştir. Kuzey Amerika'da MS 500-1500 ve Avrupa'da 12.yy'dan sonra birçok epidemiler yapmıştır. Özellikle 17. ve 18. yy'lardaki epidemilerde Avrupa nüfusunun %70'i TB' a yakalanmış ve 1/7'si ölmüştür. Hipokrat MÖ 460'lı yıllarda erime, tükenme anlamına gelen '*fitizis*' terimini kullanmıştır (6, 7). Bu hastalığın daha çok 18-35 yaş arasındaki kişilerde görüldüğünü yazmıştır (1). İlk olarak Aristo MÖ 354-322 TB hastalığının bulaşıcı özelliğinin farkına varmıştır. Roma'lı Celsus MÖ 30-50 yılında tüberkül tanımını literatüre geçirmiştir (6). MS II. yy' da F. Sylvius ise TB' dan ölen hastaların akciğerlerinde tüberkül olarak adlandırdığı küçük sert nodüllerin bulunduğunu göstermiştir (1, 6). Pierre Desault (1675-1737) ise hastalığın bulaşıcı olduğunu, temel bulaştırıcı unsurun ise balgam olduğunu belirtmiştir. Robert Koch, TB'dan ölen bir hastanın akciğerindeki lezyonlarda basili göstermiş, bunu kültürde üretmiş ve üretilen basil ile deney hayvanlarında hastalık oluşturmuştur. Böylece Koch 1882 yılında Berlin Fizyoloji Derneğinde TB'un MTB tarafından oluştuğu kanıtlamıştır (6). TB hastalığına ait klinik bilgiler özellikle Roma İmparatorluğu döneminde hekimlik yapmış iki kişiden öğrenilmiştir. Dr. Aretaus, intermittant ateş ve terleme ile birlikte genel bitkinliğin de mevcut olduğuna işaret etmektedir. Bergamalı hekim Galen, TB'un bulaştırıcılığını az olarak ifade etmekte, bunun yanında ateş, hemoptizi ve terleme belirtilerinin olduğunu belirtmiştir. Bu hastalığın tedavisinde ilaç önermemiş tedavi için egzersiz, seyahat etmek ve perhizin önemli olduğunu vurgulamıştır (1, 8, 9). Dünya tarihinde vereme etkisinden dolayı

birçok isim verilmiştir. Hastaları eriterek öldürmesinden dolayı “Tüketim hastalığı- consumption”, soldurduğu için “Beyaz Ölüm- Beyaz Veba”, birçok insanın yaşamını sonlandırdığından dolayı “Ölümün Kaptanı- Captain of the Death” isimleri verilmiştir. Türkçe de ise en çok “İnce Hastalık, teverrüm, zaafiyet, duman” olarak geçmektedir. TB basilinin bakteriyolojik çalışmaları sonucunda Robert Koch basili balgamda keşfettikten sonra Laennec dokuda basili tüberkül olarak adlandırmıştır. Basilin sağlıklı hayvanlara enjekte edilmesi ile TB hastalığını geliştirmişlerdir (8). Basilin keşfinden sonra aşı çalışmaları hız kazanmıştır. Calmette ve Guerin Vereme karşı bağışıklık kazandıracak düşük virülanslı mikobakteriyi üretmek için inekten elde ettikleri mikroorganizmayı patates, sığır safrası ve gliserinden oluşan kültürde 20 yıl boyunca 230 pasaj yapmışlardır. Bağışıklık yanıtını oluşturan, fakat hastalık yapma yeteneğini kaybetmiş bakteriye Bacille Calmette Guerin (BCG) adını vermişlerdir. Aşı dünyanın birçok yerinde yaygın olarak kullanılmış ve başarıya ulaşmıştır (10). XVII ve XVIII yüzyıllarda sanayinin gelişmesi ile birlikte insan sayısının artması, yoksulluk, savaşlardan kaynaklanan ciddi salgınlar ortaya çıkmış, Avrupa’yı etkisi altına almıştır.

İzmir’de 1923 tarihinde Verem Savaş Derneği kurulmuş ve İstanbul’da verem savaş dispanserlerinin sayısı artmıştır. İstanbul Çapa’da 1948’de Naile Sağlam Verem Araştırma Enstitüsü kurulmuştur. DSÖ, Türkiye’nin yapmış olduğu çalışmalardan dolayı başarılı bulunmuştur. TB’da klinik olarak ilk tedavi 1947’de streptomisin keşfi ile başlamıştır. İsveç’te para-amino salisilik asitin bulunması ile yeni bir döneme girilmiştir. İlaçların tek başına kullanılması ile oluşan direnç gelişimi tedavide hayal kırıklığı yaratmış ve yeni ilaç arayışlarına başlanmıştır. Robizek ve Selikof (ABD) INH’in 1952 yılında bulunması ile 18-24 ay süren kombine tedavi dönemi başlamıştır. Hastaların ilaçları üçlü kullanması ile %90-95 tedavi edilebilir hale gelmiştir. 1954 yılında ETM, 1962 yılında PAS bulunmuştur. Fakat keşfedilen her ilaçtan sonra direnç sorunu çıkmıştır. 1970’lerde RİF’in keşfedilmesi, tedaviye eklenmesi ve kazeöz odaklarda bulunan yarı dormant basillere etkili olduğunun bulunması ile tedavi süresi daha da kısalmıştır. Özellikle PZD’in tedaviye eklenmesi ile tedavinin süresini 6 aya kadar kısaltmış ve tedavi başarısı %95’lere taşımıştır (11, 12). Antibiyotik tedavisinin başlaması ile gelişmiş ülkelerde TB’un düşme eğilimi 1980’li yıllara kadar sürmüştür. Daha sonra HIV/AIDS olgularının ortaya çıkması ile yeniden önem kazanmıştır (12). 1994 yılında DSÖ, TB ve Akciğer Hastalıklarına Karşı Birlik’in (IUATLD) 72 ülkeyi kapsayan ilaç direncinin izleme paterni programınının sonuçlarını yayınlamıştır.

Dirençli olgular dünyanın her yerinde bulunmakta ve ÇİD-TB oranının %3 ten fazla olduğu ülkeleri sıcak bölgeler (Hotspots)" olarak tanımlamıştır. Verilere göre ÇİD-TB olguların % 70'i sadece 10 ülkede (Hindistan, Çin, Nijerya, Pakistan, Endonezya, Güney Afrika, Bangladeş, Filipin, Kongo, Etiyopya) bildirmiştir (2). TB kontrol programları DSÖ tarafından 1960 yılında çıkan bir yasa ile verem savaş dispanserleri kurulmuştur. TB mücadelesi hastalığın kontrolünde ülkemiz de sağlanmış ve 1993 yılında DSÖ'nün Acil Durum İlanı ve Doğrudan Gözetimli Tedavi Stratejileri (DGTS) başlamıştır (13). Hastalıkta tedavi seçeneklerinin çok kısıtlı olması, hastaların ilaçlarla uyumsuzluğu, ÇİD-TB ve YİD-TB suşlarının ortaya çıkması halk sorunu olan bu durumun büyüklüğünü orta koymuştur. 2006 yılında YİD-TB, DSÖ ve CDC tarafından, ÇİD-TB'ye ek olarak ikinci grup TB ilaçlarından üçüne daha direnç olması şeklinde tanımlanmıştır. Bu tanımları 9-10 Ekim 2006 tarihinde bırakarak ÇİD-TB'ye ek olarak bir kinolon ve bir enjeksiyon ile verilen ilaca (kanamisin, kapreomisin, amikasin) direnç olması tanımını kabul etmiştir (14). YİD-TB, ikinci grup ilaç tedavilerinin kötü uygulaması olarak çıkmıştır. Tedavilerin kısıtlı olması ve MTB genlerindeki mutasyonlar sonucundan da düşük orandaki dirençli suşların baskın suş haline gelmesine ve ilaçlara dirençli olmasına yol açmaktadır. Basillerle enfekte kişilerde de aynı şekilde direnç durumu ortaya çıkmaktadır (14). Dünya da Uluslar Üstü TB Referans Laboratuvarı Ağı (Supranational TB Reference Laboratory Network) ile yapılan İDT'in sonuçları yayınlanmıştır. DSÖ'nün 2013 raporuna göre; 2012 yılında Dünya çapında 450.000 yeni ÇİD-TB olgusu görülmüş olup, 92 ülke tarafından rapor edilen ÇİD-TB olgularının ortalama %9.6'sının YİD-TB olguları olduğu rapor edilmiştir (2).

Şekil 2. 1. YİD-TB olguları (2)



*Kırmızı ile işaretlenmiş ülkelerde en az bir YİD olgusu bulunmaktadır. Bu ülkeler; Arjantin, Ermenistan, Bangladeş, Brezilya, Şili, Çek Cumhuriyeti, Ekvator, Fransa (1 olgusu ithal), Amerika'nın Georgia eyaleti, Almanya, İtalya, Güney Kore, Letonya, Meksika, Peru, Portekiz, Rusya, Güney Amerika, İspanya, Tayland, Birleşik Krallık ve Amerika'dan oluşmaktadır.

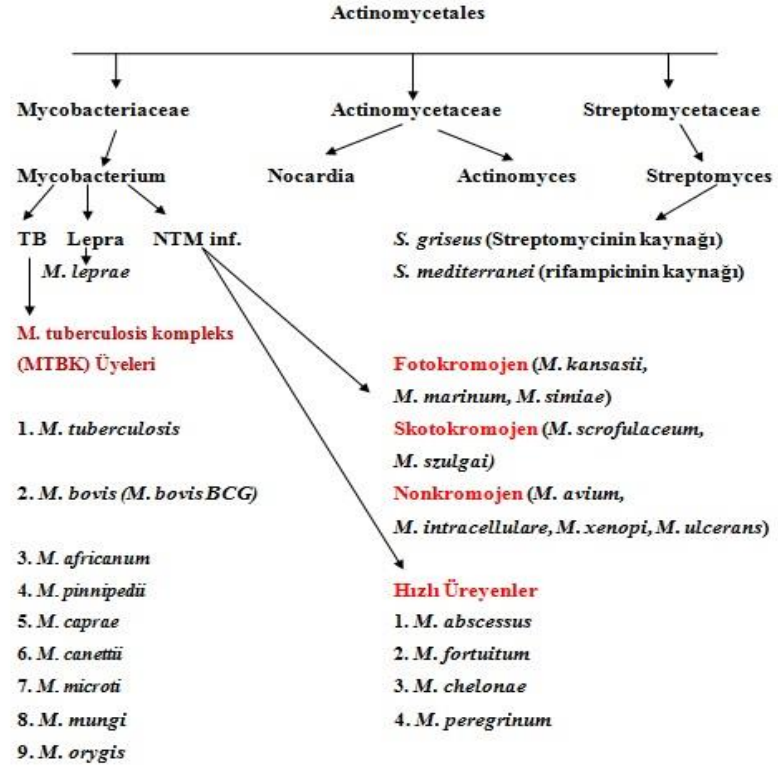
2006 yılında DSÖ, mortalitenin azalması, bulaşın engellenebilmesi, direnç gelişimi, tedavinin başarısı için TB kontrol programını yayınlamıştır. Dünya nüfusunun %55'ini ve tüm olguların %27'sini içeren 148 ülkede güçlendirilmiş Doğrudan Gözetimli Tedavi Stratejileri-Artı (DGTS-Artı) uygulamasını başlatmıştır (15). 2009 yılında DSÖ, ÇİD-TB riskli bulunan düşük ve orta gelirli 27 ülkenin bulunduğu Genişletilmiş-TB programını yayınlamıştır. Projenin amacı; kullanılan ilaç maliyetlerini azaltmak ve oluşacak olan ÇİD-TB olgularının kontrolünü sağlamaktır (2, 3).

Tüm programların ışığında 2025 yılına kadar TB'nin Kontrol Altına Alınması için hedefler yayınlamıştır. Özellikle 1900'li yıllarda başlayan endüstrileşmiş ülkelerde hız kazanan mücadele de 2025 yılına kadar hastalığa bağlı ölüm olguların azaltılması, hastalığın yayılmasını kontrol altına almak ve salgınların önlenmesi hedeflenmiştir (2).

2.2. Mikobakterilerin Mikrobiyolojik Özellikleri

Mikobakteriler, prokaryot alemi içerisinde yer alan Firmicutes Phylumu, Actinobacteria sınıfının Actinomycetales takımı içinde yer alan Mycobacteriaceae familyasının *Mycobacterium* cinsinde bulunurlar (16, 17). Bu cins içerisinde yer alan *Mycobacterium* türleri, deoksiribonükleik asit (DNA)'lerindeki yüksek G+C içeriği (%61-71) ve hücre duvar yapısında farklı miktarlarda bulunan mikolik asit içeren diğer cinslerle (*Nocardia*, %64-72; *Rhodococcus*, %63-73 ve *Corynebacterium*, %51-59) benzerlik gösterirler. Birbirleri ile yakın ilişki gösteren, DNA benzerlikleri ve bakteriyolojik özellikleri yönünden "kompleks" adı altında toplanmıştır. MTBK olarak tanımlanan grup içerisine *M. tuberculosis*, *M. bovis* (*M. bovis BCG*), *M. africanum*, *M. pinnipedii*, *M. caprae*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. mungi*, *M. orygis* olmak üzere 9 tür bulunmaktadır. Bu grubun dışında kalan türlere atipik mikobakteriler veya non-tüberküloz mikobakteriler (NTM) veya tüberküloz dışı mikobakteriler (TDM), *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. smegmatis* ve *M. avium complex* (*M. intracellulare* ve *M. avium*) olarak isimlendirilir (18).

Şekil 2. 2. Mikobakterilerin şematik sınıflandırılması



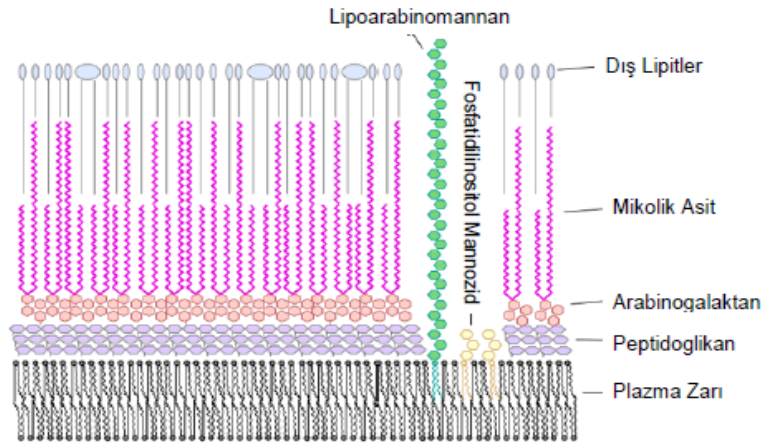
Şekil 2. 3. Mikobakterilerin genel özellikleri (22)

Türler	Mikobakterilerin Genel Özellikleri																		
	Üreme Dereceleri ^a °C				Koloni		Niacin	T ₂ H'ya Duyarlılık	Nitrat Redüksiyonu	Yarı Kantitatif Katalaz	68°C Katalaz	Tween Hidrolizi	Tellürit Redüksiyonu	%5 NaCL'ye direnç	Demir Alımı	Aryl Sulfataz	McConkey Agar'da Üreme	Üreaz	Pirazinamidase
	45	37	31	24	Tipi ^b	Pigment ^c													
<i>M. tuberculosis</i>	-	Y ¹	Y	-	R ¹	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
<i>M. bovis</i>	-	Y		-	R	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
<i>M. kansasii</i>		Y	Y	Y	S/R ²	F ¹	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>M. marinum</i>		+	O ²	O	S/R	F	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>M. ulcerans</i>	-	-	Y	-	R	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. simiae</i>		Y			S	F	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+
<i>M. scrofulaceum</i>		Y	Y	Y	S	Sk ²	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	D	-	+
<i>M. szulgai</i>		Y	Y	Y	S/R	Sk/F	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	D	-	+
<i>M. gordonae</i>		Y	Y	Y	S	Sk	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	D	-	-
<i>M. xenopi</i>	Y	Y			S	Sk	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	D
<i>M. avium-intracellulare</i>	+	Y		+	S/R	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+
<i>M. gastri</i>		Y		Y	S/R	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>M. malmoense</i>		Y	Y	Y	S	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	D	+
<i>M. haemophilum</i>			Y	Y	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>M. nonchromogenicum</i>		Y		Y	S/R	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	D	-	D
<i>M. terrae</i>		Y		Y	S/R	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	D	-	D
<i>M. triviale</i>		O		Y	R	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	D
<i>M. fortuitum</i>	-	Ç ³		Ç	S/R	-	-	-	+	+	+	D	+	+	+	+	+	+	+
<i>M. chelonae</i>		Ç		Ç	S/R	-	D	-	-	+	D	D	+	D	-	+	+	+	+
<i>M. phlei</i>	Ç	Ç		Ç	R	Sk			+	+	+	+	+	+	+	-	-		
<i>M. smegmatis</i>	Ç	Ç		Ç	S/R	-			+	+	+	+	+	+	+	-	-		
<i>M. vaccae</i>		Ç		Ç	S	Sk			+	+	+	+	+	D	+	-	-		

Açıklamalar: a- 1 Y: bulunduğu sıcaklık derecesinde yavaş üreyenler, 2 O: bulunduğu sıcaklık derecesinde orta hızda üreyenler, 3 Ç: bulunduğu sıcaklık derecesinde çabuk üreyenler. b- 1 S: smooth-düz koloni, 2 S/R: smooth-düz rough-düzensiz oluşturanlar. c- 1 f: fotokromojenler, 2 Sk: skotokromojenler. + olumlu, - olumsuz, +- genellikle olumlu, -+ genellikle olumsuz, D; değişken Basiller 0.2-0.6 µm eninde, 2-10 µm boyunda, aerop, sporsuz, hareketsiz, düz veya hafif kıvrık, katalaz üreten, düzgün çomak şeklinde dallanabilen mikroorganizmalardır (18). Yavaş üreme özelliği gösteren pleomorfik basiller, 12-18 saatte bölünürler. Optimum üreme şartları türler arasında farklılık göstermesine rağmen pH 5-6, %5-10 CO₂ ve 37

°C uygun ortamlardır. Koloniler uygun şartlarda 10-15 günde görülemeye başlar. En önemli özelliği zorunlu aerop olmasıdır (19, 20). Kompleks bir hücre duvarı yapısına sahip olan mikroorganizma, plazma zarı ile sınırlanan sitoplazma ve bu yapıyı çevreleyen lipitten zengin hücre duvarına sahiptir. Sahip olduğu çok miktarda lipofilik makromoleküller birçok biyolojik aktiviteye sahiptir. Bu durum aside dayanıklılığının, konak canlı tarafından salınan litik enzimlere karşı bakterisidal ilaçlara karşı direnç ve bakterilerin bir araya gelerek toplanmasını sağlar. Bakteriyolojik boyamalarda kullanılan analin boyalarının hücre duvarından geçmesine izin vermez ve Gram boyama ile boyanamazlar. Hücre duvarından analin- analin boyalar fenol ya da ısı işlemleri ile birlikte kullanılması gerekir. Hücre içerisinde geçen boyalar ise asit-alkol ile uzaklaştırılır. Güçlü aside dirençlik göstermelerinden dolayı aside dirençli (rezistan) bakteri (ARB) olarak isimlendirilir (21-23).

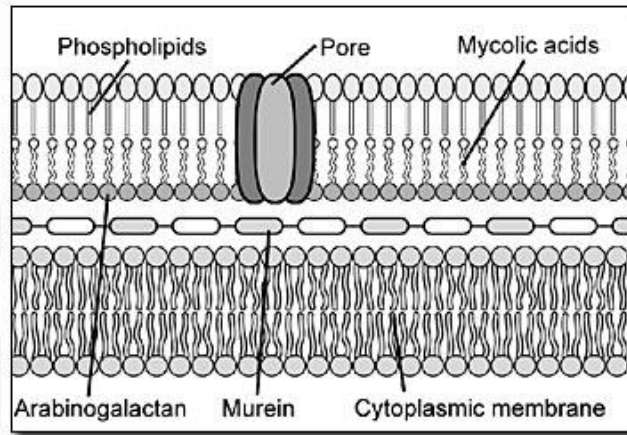
Şekil 2. 4. Mikobakteri hücre duvar yapısı



Mikobakterilerin hücre duvar yapısı kompleksinin en iç tabakasında, plazma membranının üstünde hücreye sertlik veren kısa yapılı peptid zincirleri ve çapraz bağlarla bağlanan peptidoglikan (murein) bulunur. Hücre duvar yapısının yaklaşık %35'ini oluşturur ve peptidoglikan tabakaya fosfodiester köprüsüyle bağlanan arabinogalaktan yapısı bulunur. Bu yapı *Corynebacterium* ve *Nocardialar*'da da bulunur. Mikolik asitler, arabinogalaktanların yan zincirlerindeki üç arabino birimlerine kovalent bağlarla bağlanırlar. Bu yapı yaklaşık 70 karbon atomu içeren, hücre duvarının kalınlığından ve mikroorganizmanın aside dirençli olmasından sorumludur. Mikolik asitler, trehaloz şekerlerine bağlanarak kord faktörlerini oluşturabilir. Yapının en dış

tabakasında polisakkarit, protein ve çok az lipitlerden oluşur. Yapının içeriğinde bulunan α -1,4 glukoz, mannan içeren lipomannan ve lipoarabinomannan gibi kapsül yapıları bulunur. Hücre duvar yapısında bulunan lipitlerin birçoğu uzun zincirli yağ asitleri ve duvar ağırlığının %60'ını meydana getirir (Şekil 2. 4). Gram negatif bakterilerde bulunan porin proteinleri mikobakterilerde de bulunur (Şekil 2. 5) (23-25).

Şekil 2. 5. Mikobakteri hücre duvarı porin kanal yapısı



2.3. Antijenik Yapı Ve Virulans Faktörleri

Mikroorganizmanın hücre duvar yapısının karışıklığı makrofaj aktivasyonu, granülom oluşturma ve toksisite gibi değişik özellikleri ile etkileri bulunan polisakkaritler, lipidler ve proteinler immünolojik özellik gösterir. İnfeksiyonda esas olarak anahtar immünojenler proteinlerdir (26).

2.3.1. Old Tuberkülin (OT)

Robert Koch TB basilinin bulunmasının ardından, filtrasyonla sterilize edilmesi sonucu elde edilen saf üründür. OT'un infekte ettiği bireylerde basille karşılaşmamış bireylere göre daha belirgin reaksiyon oluşturur. Bu nedenle tanıda intradermal cilt testi olarak kullanılmıştır. OT'in besiyerine ait maddeler ve farklı komponentler içermesi nedeni ile saflaştırılmasına gerek duyulmuştur. Bu durum PPD'nin gelişmesine olarak sağlamıştır (26).

2.3.2. Saflaştırılmış Protein Derivesi (Purified Protein Derivative-PPD)

OT'in kollodyen membranlardan süzdürülmesi ve amonyum sülfatla çöktürülmesi ile ilk kez Ssibert ve Glenn (1941) tarafından hazırlanmıştır. Tamamen saflaştırılmaması ve çapraz reaksiyon vermesine rağmen immünodiagnostik önemi günümüzde hala mevcuttur. OT testinde tüberkuloprotein 32 kD olmasına rağmen PPD'de 2 kD ve 9 kD olmak üzere iki protein içerir. DSÖ tarafından kabul edilen test olmasına rağmen PPD testi, bireylerin sadece tüberküloz bakterileri ile karşılaşp karşılaşmadığını göstermektedir (26, 27).

2.3.3. Isı Şok Proteinleri-HspX (65Kda, 38 Kda, 12 Kda)

Şaperon benzeri proteinler olup, konağın T helper 1 (Th1) cevap oluşturması ve koruyucu immunité geliştirmesini sağlar. Farklı çeşitleri olup tüberküloz basilinin dormant fazda hayatta kalması ve apoptozdan korunmasını sağlar (26).

2.3.4. 19 kDa Lipoprotein

Saflaştırılan proteinler arasında ısı şok proteinlerine en çok benzer ve immünojeniktir. Yapı Toll benzeri reseptör 2 (Toll-like receptor: TLR:2) aracılığı ile makrofajlardan interlökin 12 (IL-12) üretilmesini inhibe eder. Yapının monosit ve makrofajların apoptozunda rol oynar (26).

2.3.5. ESAT-6 (Erken Salgılanan Antijenik Hedef) ve CFP-10 (Kültür Filtrat Protein)

İnterferon Gama (INF γ) salınımını ve T hücre üretimini indükleyen ESAT-6 mikroorganizmanın RD1 gen bölgesinden kodlanmaktadır. T hücre sayısını proteinlere karşı oluşan INF cevabı belirler (26).

2.4. Mikobakteriyel Lipidler

2.4.1. Lipoarabinomannan (LAM)

Hücre duvarında bulunur. Konak hücre makrofajlarından Tumor nekroz faktörü- α (TNF- α) salınımını artırır. Yangısal tepkimeleri nötrofilerin dokuya geçmesini sağlar (28).

2.4.2. WaxD

Peptidoglikolipid yapısında olup Freud's adjuvanının etkisini artırır. Bazı tümörlerde BGC aşısı, immünoteropatik etki gösterir (28).

2.4.3. Trehaloz-6,6 Dimikolat (Kord Faktör)

TB basillerinde küme oluşturma özelliği kazandırır. Adjuvan aktivite de içeren önemli bir virulans faktörüdür. Alternatif kompleman yolunu aktive etme, polimorfnükleer lökosit göçünü engelleme gibi özelliklerinin yanı sıra granülom oluşumunda da rol oynar. Konak hücre mitokondri membranına tutunarak, solunum ve oksidatif fosforilasyonda hasara yol açar (28, 29).

2.4.4. Süfolipidler (Sülfatidler)

Yapısında sülfür bulunduran glikolipidlerdir. Fagozom-lizozom füzyonunu makrofajlarda engellerler. Kord faktörün toksik olan etkisini artırır ve mikroorganizmayı lizozom enzimlerinden korur (28, 29).

2.4.5. Fosfatidil İnozitol Mannoizid (PIM)

Hapten özelliğine sahip, lipid yapısında ve koruyucu immünitede rolü vardır (28, 29).

2.5. Patogenez

Basilin insanla karşılaşması ile çok farklı görüşler ortaya atılmış olmasına rağmen, patogenezdaki temel aşamalar aşağıda tanımlandığı gibidir (30).

2.5.1 Evre I- Bulaşma/Başlangıç Evresi (1. Hafta)

Mikroorganizmanın bulaşı, Akciğer-TB’u olan hastaların dış ortama çıkardıkları solunum sekresyonlarının sağlıklı bireylerin solunması ile ilk evre başlamış olur. Sekresyonların sıvı kaybetmesi sonucunda, 1-5 µm çapındaki damlacık çekirdekleri akciğer alveollerine yerleşir. Alveoler makrofajlarla karşılaşan basiller ilk karşılaşmada virülansı, dayanıklılığı ve makrofajların aktiviteleri savaşı belirler ve fagositoza başlar. Bu evrede makrofajların antimikrobiyal yanıtı ile proinflamatuvar direnci yeterli olmadığı için, basillerin bir kısmı ölür, bir kısmı bütünlüğünü bozmadan canlı kalır ve bir kısmı antijenik yapılara ayrılır (26).

2.5.2. Enfeksiyon, Çoğalma ve Yayılma (2-3 Hafta)

Makrofajlar içerisinde bütünlüğünü bozmadan canlı kalan basiller, makrofajların bütünlüğünü bozar ve basiller serbestleşir. Bu yıkımla beraber kemokinler inflamatuvar hücrelerin salımını sağlayarak monositler, naturel killer (NK) hücreleri, T lenfositler gibi hücreler lezyon bölgesine gelir. Basiller 15-18 saatte kontrolsüz olarak 20 günün sonunda bölgeye gelen monosit ve lenfositler granülom oluşumunu başlatır.

Makrofaj içerisindeki basiller alveolar dentritik hücrelerce alınır ve bölgesel lenf bezlerine taşınarak lenfo-hemotojen yol ile tüm vücuda yayılarak granülom formasyonunu oluşturur. Sağlıklı bireylerde basillerin büyük çoğunluğu makrofajlarla yok edilir. Yok edilemeyen büyük kazeöz odaklar tüberkülomlar izole edilir (26).

2.5.3. Konakçıda İmmun Yanıtın Gelişimi

Konakçıda immün yanıtın gelişimi önemlidir. Alveoler makrofajlar tarafından TNF-alfa ile otokrin aktivasyonu başlar. IL-1 ve IL-12 aracılığıyla CD4+, CD8+ inflamasyon bölgesine gelir ve makrofaj içerisinde peptit antijenlerine parçalanır Major doku uygunluk kompleks (MHC)'ine bağlanır. Antijenik epitoplara MHC-I ile CD8+, MHC-II ile CD4+ T lenfositlerine sunulur ve aktive olan T lenfositleri IL-2 salgılar. T lenfositlerin inflamasyon alanına birikmesi için gerekli uyarıları verir.

Bölgesel lenf bezlerinde MHC-I ve II molekülleri ile CD4 ve CD8 T lenfositlere sunulum gerçekleşir. Stimüle olan hücreleri INF- γ salgılayan Th-1 ya da Tc-1 dönüşümü gerçekleşir. Aynı zamanda B lenfositler farklılaşır. Bu süreçte konakçıda hücrel immün yanıt meydana gelir. Bu yanıt makrofajlar içerisinde basillerin canlılığını inhibe ederek, sayıca çoğalmasını durdurur. Aynı zamanda lezyonların küçülmesine, giriş bölgesinde ve uzak bölgelerdeki basillerin azalmasını sağlar.

Ekstraselüler solid kazeöz dokuda basiller canlılığını devam ettirir. Burada dormant basiller uzun süre kaldıkları için ilaçlardan etkilenmeden, tüberkülin cilt testi pozitifleşir. Enfeksiyonlu kişilerin %5'inde gözlenen bu tabloya primer TB denir (30).

2.5.4. Likefaksiyon ve Hızlı Basil Çoğalması, Yeniden Bulaşma

Konağın kendini savunmasında hücrel immün yanıt etkili olurken, gecikmiş tipte aşırı duyarlılıkta nekroz ve kaviteleşmeye yol açan reaksiyona neden olur. Olguların % 5'inde postprimer TB ya da reaktivasyon TB olarak basiller, lenfo-hemotejen yolla yayıldığında tanımlanır.

Hücrel immünitenin yetersiz kaldığı durumlarda likefaksiyon ve nekroz artar, bununla birlikte kavite oluşabilir. Bronkojenik yol ile akciğerin diğer bölgelerine yayılır ve materyalin ekspektasyonu ile sağlıklı bireyler de bu yapıların solunmasıyla enfekte edilmiş olur (31-34).

2.6. Klinik

Basiller zorunlu aerop olduğu için, oksijen tutulumu iyi olan organlara yerleşmeye ve hastalık tablosu oluşturmaya yatkındırlar. Semptomlar sinsi başlangıç göstermesine rağmen genellikle ateş, gece terlemesi, kilo kaybı gibi semptomlar gösterir. Erişkinlerde gözlemlenen bu tabloya çocuklarda kilo alamama, kuvvet kaybı, hırıltı, effüzyon gibi semptomlar eklenir (7).

2.6.1. Primer Tüberküloz

Solunumla alınan basiller;

- Ghon odağı (AC parankimlerindeki pnömoni)
- Hiler lenf bezinde granüloamatöz inflamasyon
- Lenfanjit ile karakterize Ranke kompleksine neden olur. Primer infeksiyon olarak adlandırılan bu tabloda hücrel immün yanıt durdurulur ve hastalığın meydana gelmesi ile sonlanır.

Subplöral yerleşim gösteren olguların %85'inde görülür. Lenf dolaşımı akciğerlerde soldan sağa olduğu için sol bölgedeki primer odaktan basiller; ilk etapta sol, daha sonra sağ hiler lenf bezlerini enfekte ederek bilateral lenfadenopatiye neden olur. Sağ AC'lerde ise daima aynı tarafa doğru lenfadenopati görülür. Ranke kompleksi genellikle parankimde geniş bir kitle oluşturur ve bu yüzden AC grafilerde hiler lenfadenopati görülür.

En sık gözlenen komplikasyon ise atelektazidir. Lenf bezleri aşırı büyüyerek komşu bronşlara baskı yapar ve bronş lümenleri daralarak iltihabi reaksiyon ve basıncın artmasıyla duvar delinir. Bunun sonucunda lenf bezinin içeriği bronşa alarak lümeni tıkanmasıyla atelektazi ve/veya amfizem oluşturur.

Primer TB genellikle asemptomatiktir. Olguların %45-50'si 0-12 ay yaşında, 1 yaş ve üstünde %85-90'ında ise rastlantı eseri çekilen AC grafileri sonucu tanı konur. Genellikle fiziki muayenelerde semptomla karşılaşılmaz.

Plönezi bulguları aşırı duyarlılık reaksiyonları sonucu fliktenli keratokonjoktivit ve nodozom görülebilir. Progresif AC-TB’li hastalar primer kompleksin iyileşmediği durumlarda ortaya çıkar (7).

2.6.2. Sekonder Tüberküloz

Primer enfeksiyon geçiren olgularda latent halde bulunan basillerin sayıca çoğalmaya başlaması ve/veya aktif TB’lu basil yayan hastadan, kişinin virülan bir basil alması ile ortaya çıkan tabloya denir (7).

2.6.2.1. Endojen Reaktivasyon

Primer enfeksiyon sırasında latent halde bulunan basillerin, kişinin yaşamının başka bir döneminde hücrel immün yanıtın da bozulma meydana gelmesi ile basillerin apikal-subapikal bölgesinde aktif hale gelmesi durumudur (7).

2.6.2.2. Eksojen Reinfeksiyon

Daha öncesinde primer enfeksiyon geçirmiş bireylerin ve/veya aktif TB’li hastadan virülan basillerin alınmasıyla ortaya çıkan tablodur (7).

2.7. Epidemiyoloji

Tüberküloz dünya tarihinde bilinmeye başlamasından günümüze kadar, gelişmiş ülkelerde görülme oranı düşük olmasına rağmen dünya çağında halk sağlığında ciddi tehditler oluşturmaktadır.

Dünya genelinde tüm ölüm olgularının % 7’sini ve önlenebilir ölüm olgularının %26’sına TB olguları olmaktadır. Bu verilere baktığımızda görülme sıklığında ve mortalitenin artmasında;

- i. İlaç direncinin yaygınlaşması,
- ii. HIV/ AIDS olgularının artması,
- iii. İntravenöz ilaç kullanımının yaygınlaşarak artması,

- iv. Sosyokültürel değişkenliklerin yaygınlaşması,
- v. Göçler,
- vi. Zorunlu toplu yaşam alanlarında bulaşın artması,
- vii. Hastalara ulaşmada ve takibinde yaşanan sıkıntıların artmasıdır.

TB' nin bir toplumdaki durumunu ve ilerlemesindeki en güvenilir epidemiyolojik veriler;

- a. Direk mikroskopi muayenesinde basil pozitif tespit edilen hastaların insidansı,
- b. Yıllık infeksiyon riski,
- c. İnfeksiyon hızındaki yıllık değişimdir (35).

2.7.1. Dünyada Tüberküloz

Tüberküloz dünya çapında on ölüm nedeninden biri olarak halen devam etmektedir. Dünya nüfusunun yaklaşık %86'sı gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkeleri kapsamaktadır. Bu ülkelerin olguların %95'i tüm dünyadaki tüberküloz olgularını kapsamaktadır. Özellikle Batı Afrika ülkelerine baktığımızda yaygın olarak görülmekte ve bu insidansın yüksek olmasında HIV/AIDS epidemisine bağlıdır. Gelişmiş ülkelerde ise olgular genç bireylerden oluşmaktadır.

Tüberküloz da ürkütücü olan en önemli nokta herhangi bir anti-TB ajanı ile karşılaşmamış sokak tipi basillerin arasında dirençli suşların artması, morbiditeyi birlikte mortalite oranının artmasıdır. Çünkü ÇİD-TB mortalitesine %50-80'e kadar çıkarmaktadır. Bu suşların enfekte olduğu kişilerin tanı ile ölüm arasındaki sürenin kısa olmasından dolayı tanı ve tedavi için hızlı olunması gerekliliğini ortaya koymuştur. Çünkü tanı ile ölüm arasındaki süre 4-16 haftadır. Bu süre ÇİD-TB insidansının ve ölüm oranını arttırmaktadır. Tüm bunların sonucunda ÇİD-TB suşların orantısal artışını gelişmemiş ve gelişmekte ülkelerdeki insidansını arttırmış ve uygulanan küresel kontrol programların yavaşlamasına neden olmuştur.

Çoklu ilaca dirençli suşların HIV'in artmasına bağlı olarak gelişmiş ülkelerde genç TB'lu hastalarda, primer TB olguların ve ÇİD-TB'nin artmasında önemli bir etkidir.

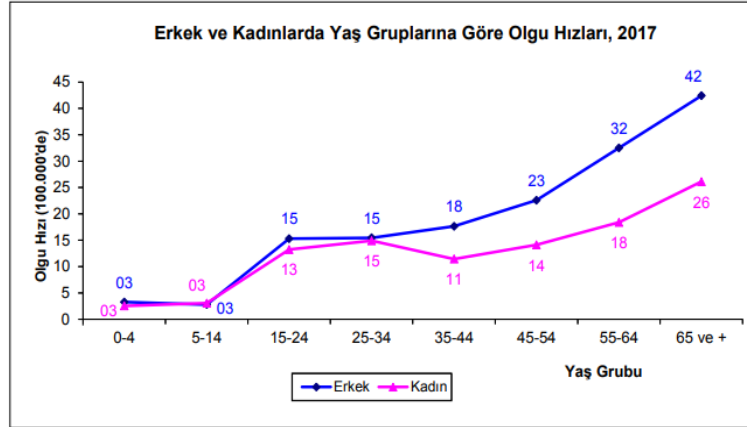
DSÖ'nün 2020 yılı Global TB raporunda 2018 yılında 14,1 milyon kişinin tedavi edildiğini, 6,3 milyon kişinin koruma programına alındığını; 2019 yılında yayınlanan beş yıllık (2018-2022) hedeflerinde 40 milyon kişinin tedavisini ve 30 milyon kişinin koruma programına alınmasını hedeflemektedir. TB'un tedavi, takip ve önlenmesi için 2020 yılında 6,5 milyar dolar harcadığı ve 2022 yılına kadar bunun 13 milyar doları hedeflemektedir. Bu hedeflere ulaşırken 2019 yılındaki ilerleme 2018 yılına göre daha yavaş geçmiştir. Dünya'da 2018 yılında 333304 kişi ÇİD-TB tedavisi yapılmış ve bunların 8986 kişisi çocuk ÇİD-TB olduğu belirtilmiştir. 2022 yılına kadar bu sayı 1,5 milyon kişiye ulaşmayı hedeflemektedir. Gelişmiş ülkelerde yıllık TB riskinin %0,1- %0,01 düzeylerinde ve her yıl bu oran azalmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde bu oranın %0,5- 2,5 arasında değişmekte ve enfeksiyonun hızını azaltmaktadır. TB önleyici tedaviler HIV'in artmasına bağlı olarak belirlenen hedeflere 2020 yılına geldiğimizde yavaşladığını görmekteyiz (36).

2.7.2. Türkiye'de Epidemiyoloji

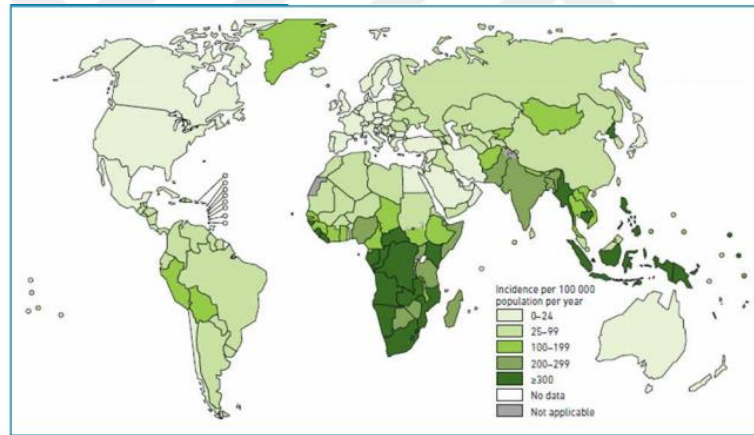
Türkiye'de Cumhuriyetin ilk yıllarında Veremle Savaş Cemiyeti kurulmuş ve TB ile mücadeleye başlanılmıştır. Hastalığın 1950' lerdeki prevalansı %0,25 ve 1975'te %0,1' dir. Fakat 1977'den sonra enfeksiyon riskinin artmış olması, ilerleyen dönemlerde tekrardan TB'ü gündeme getirmiştir. 2005 yılına kadar hasta verileri verem savaş dispanserlerinde toplanmakta olup, Sağlık Bakanlığında il ve ülke düzeylerine göre hesaplanmıştır. Ülkemizde 2006 yılından itibaren DGTS kapsamına geçilmiş olup, hastaların verileri bireysel olarak toplanmakta ve raporlanmaktadır (37).

Dünyadaki toplam TB insidansının ve mortalitenin en yüksek olduğu bölgelerin Güney Doğu Asya ve Afrika olduğunu görmekteyiz (Şekil 2.7). Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü'nün 2018 Küresel Tüberküloz Raporunda 2017 yılının insidansı 100 000'de 17 ve mortalite hızı 100 000'de 0,53 olarak belirtilmiştir (Şekil 2.6, 2.7) (38).

Şekil 2. 6. Toplam TB Olgularının Yaş Gruplarına ve Cinsiyete Göre Olgu Hızları, 2017 (42)

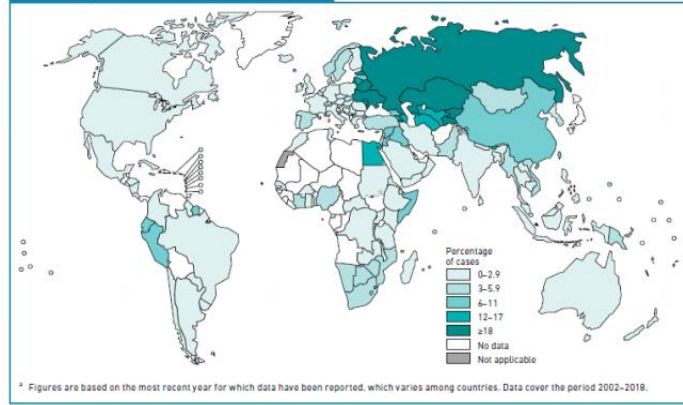


Şekil 2. 7. Ülkelere Göre Tahmini TB İnsidans Hızları, 2017 (42)

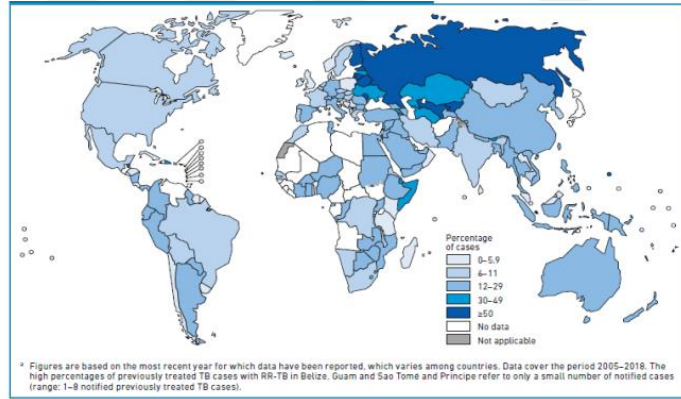


Dünya genelinde ÇİD-TB olgularına sahip yüksek riskli bölgeler arasında ülkemiz bulunmamaktadır (Şekil 2.8, 2.9). Türkiye’de tahmini Küresel TB 2018 Raporuna göre R-RIF/ÇİD-TB oranı yeni tüberküloz olgularında %3,3, daha öncesinde tedavi görmüş olgularda %14 olarak belirtilmiştir (Şekil 2.10).

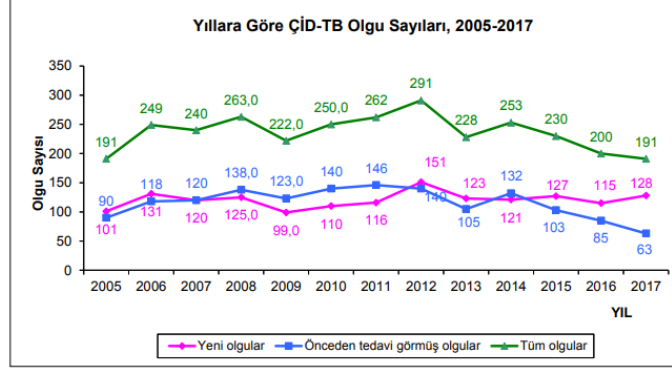
Şekil 2. 8. Ülkelere Göre Yeni Tüberküloz Olgularında R-RIF/ÇİD-TB Oranı, 2017 (42)



Şekil 2. 9. Ülkelere Göre Önceden Tedavi Görmüş Tüberküloz Olgularında R-RIF/ÇİD-TB Oranı, 2017 (42)



Şekil 2. 10. Yeni, Önceden Tedavi Görmüş ve Tüm Olgularda ÇİD-TB Sayıları, 2005-2017 (42)



2017 yılında Türkiye’de kaydedilen 12.046 TB olgularının 68’inde (%0,6) HIV (+) tespit edilmiştir. 2018 Küresel Tüberküloz Raporunda Türkiye’de 2017 yılındaki nüks ve yeni TB olgularında HIV prevalansının %0-4,9 aralığında olduğu verilmiştir (38).

2.8. Tüberküloz İlaçların Etki Mekanizmaları Ve Anti-TB İlaçlar

Etki mekanizmalarına göre TB’da kullanılan ilaçları 4 grupta incelenir.

1. Hücre duvarı inhibitör grubu (isoniazid, etambutol, etionamid, sikloserin),
2. Nükleik asit sentez inhibitör grubu (rifampisin, kinolonlar),
3. Protein sentez inhibitör grubu (streptomisin, kanamisin),
4. Membran enerji metabolizma inhibitör grubu (pirazinamid).

Aktif olarak TB hastaları üzerine kullanılan bu ilaçlar tüberküloz basillerine karşı çok farklı metabolik aktivite gösterir.

2.8.1. Tüberküloz Tedavisinde Kullanılan Anti-TB İlaçlar

Tanı konulan hastalara, ülkenin ilaç direnci potansiyeline göre standart TB tedavisi başlanır. Ana hedef hastaların nüks gelişimini engellemek ve kür sağlamaktır. İlk olgularda INH, RIF, PZA ve EMB ilaçları ilk iki ay kullanılır. Sonraki dört ayda INH ve RIF kullanılır. Direnç gelişen olgularda ikinci seçenek ilaçlara geçilir.

Tedavide kullanılan ilaçlar birinci ve ikinci kuşak olmak üzere iki ana gruba ayrılır (Tablo 2.1) (39).

Tablo 2. 1. Tüberküloz tedavisinde kullanılan anti-TB ilaçlar

Birinci kuşak ilaçlar	İkinci kuşak ilaçlar
Streptomisin (STR)	Sikloserin, p-Aminosalisilik asid
Isoniazid (INH)	Etionamid, Protionamid, Tiasetazon
Rifampin (RIF)	Amikasin, Kanamisin, Kapreomisin,
Rifabutin	Levofloksasin, Gatifloksasin,
Rifapentin (RPT)	Moksifloksasin
Etambutol (EMB)	.
Pirazinamid (PZA)	.

2.8.1.1. Tüberküloz Tedavisinde Kullanılan Birinci Seçenek Anti-TB İlaçlar

- **Streptomisin (STR):** İlk keşfedilen aminoglikozididir. Diğer aminoglikozidlerde olduğu gibi bakterisidal ve ribozomal peptid/ pretein sentezini inhibe eder. Gr (-) ve Gr (+) bakterilere karşı yaygın bir kullanımı mevcut olmasına rağmen, yüksek direnç profiline sahip olması kullanımını kısıtlamıştır. Tarihsel olarak akciğer-TB için ilk ve en etkili tedavi olmasına rağmen son dönemlerde MTB suşlarında ortaya çıkan yaygın ilaç direncinden dolayı izoniazid, pirazinamid ve etambutol'ün standart kombinasyon tedavisinin etkili olmadığı durumlarda streptomisin, rifapentin, rifabutin, linezolid gibi MTB'ye karşı aktivitesi olan diğer antibiyotikler olan levofloksasin, gatifloksasin ve moksifloksasin gibi belirli florokinolon antibiyotikleri arasında bir alternatif tedavi olarak kabul edilmektedir (40, 41).
- **Izoniazid (INH):** 1952'den günümüze kadar, TB tedavi rejimlerinde kullanılan en önemli ilaçtır. Katalaz-peroksidaz *KatG* tarafından aktive edilen, *Mycobacterium* ' umların hücrelerini oluşturan mikolik asitler üretimini engelleyen çeşitli radikaller ve eklentiler oluşturan bir ön ilaçtır. Bu aktivite, INH' in güçlü bir bakterisidal ajan olmasını sağlar. Ayrıca, *KatG* tarafından üretilen diğer türlerle ve TB tedavisinde kullanılan diğer ilaçlarla sinerjik etki göstermektedir. İlaça duyarlı suşlar için INH içeren, CDC tarafından önerilen dört çoklu ilaç rejimi vardır. Rejimler, 2 aylık bir başlangıç aşamasından ve ardından 4 veya 7 aylık bir devam aşamasından oluşmaktadır (42, 43).

- **Rifampin (RIF):** Klinik olarak, hastalığa neden olan mikroorganizmaların tanımlandığı, ilaç duyarlılığının belirlendiği enfeksiyonlar için önerilmekte ve diğer antimikrobiyal ajanlarla birlikte ilaç direncini önlemek için kullanılmaktadır. Aktif/ latent tüberküloz tedavi rejimlerinde kullanılan önemli bir ilaçtır. Rifampin, DNA'ya bağımlı RNA polimerazın (RNAP) inhibisyonu yoluyla ya 5 'ucunda uzayan RNA'nın yolunu sterik olarak bloke ederek ya da kısa RNA transkriptleri için RNAP'ın afinitesini azaltarak antimikrobiyal aktiviteyi üretir. İlaça duyarlı suşlar için INH içeren, CDC tarafından önerilen dört çoklu ilaç rejimi vardır (44, 45).
- **Etambutol (EMB):** 1960'lardan beri TB'yi tedavi etmek için kullanılmaktadır. Ethambutol, rifampisin, izoniazid ve pirazinamid ile birlikte TB için ilk tedavi yöntemlerinden biridir. Etambutol, hücre duvarındaki arabinogalaktanın biyosentezine müdahale ederek bakteriyostatik etki eden bir ajandır. Araştırmacılar, etambutolün, bakteriyel hücre duvarı bütünlüğü için gerekli olan bir enoil-asil taşıyıcı protein redüktazını kodlayan INH tarafından hedeflenen, *inhA* geninin bir transkripsiyonel baskılayıcısı yolu ile MTB karşı INH ile sinerjistik etkilere sahip olduğu tahmin edilmektedir. Bir çalışma, etambutolün, *inhA* geninin INH duyarlılığını artıran bir *TetR* transkripsiyonel düzenleyiciye bağlandığını göstermektedir. Sonuç olarak iki ilacın birlikte kullanılması, INH' in etkisini arttırmaktadır (46).
- **Pirazinamid (PZA):** İlk defa 1950'lerde etkisi gösterilmiş olan ilaç, sterilize edici birinci basamak TB ilacıdır. PZA'nın biyoaktif formu olan pirazinoik asidin, *M. tuberculosis*'te koenzim A'nın biyosentezini kesintiye uğrattığını göstermiştir. Son dönemlerde tedavilerde majör ilaç şeklinde INH ve RIF ile kombine olarak kullanılmaktadır. Eğer PZA kombinasyona dahil değil ise tedavi sonrası nüks oranı, PZA kullananlara göre daha yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda monosit ve makrofajların içinde yavaş çoğalan basillere karşı INH kadar tüberkülisiddir (47).

2.8.1.2. Tüberküloz Tedavisinde Kullanılan İkinci Seçenek Anti-TB İlaçlar

Sikloserin, p-Aminosalisilik asid, Etionamid, Protionamid, Tiasetazon Amikasin, Kanamisin, Kapreomisin, Levofloksasin, Gatifloksasin, Moksifloksasindir. Özellikle son dönemlerde AIDS olgularının artmasıyla *M. avium kompleksi* (MAC) basillerinin neden olduğu, dissemine atipik tüberküloz gelişme riski nedeniyle MAC türü mikobakterilere karşı kullanılan 3. sıra ilaçlar (rifabutın ve makrolid antibiyotikler olan klaritromisin ve azitromisin) bu sınıflamaya eklenmiştir (48).

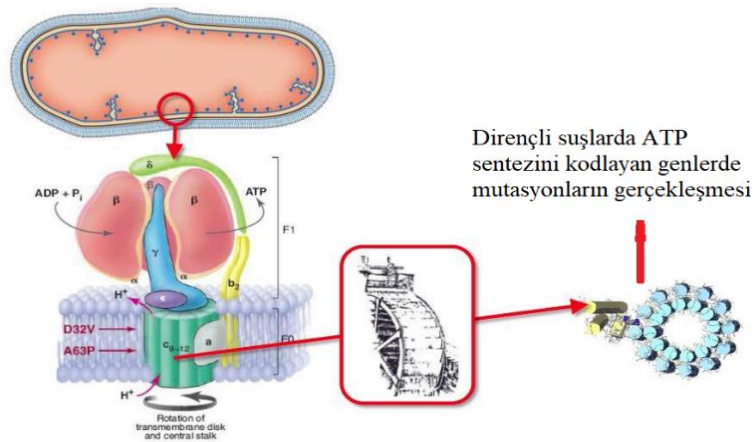
- **Para-amino salisilik asit (PAS):** Dar spektrumlu olan bu ilaç, sadece TB tedavisinde kullanılmaktadır. Paraaminobenzoik asidin yapı analogu olup, aynı zamanda para-aminobenzoik asidin folik aside bağlanır. Konversiyonunu kompetitif olarak basilin blokesini sağlar ve bakteriyostatik etki gösterir. İlaç, zayıf etki göstermesine rağmen, mikobakterilerin STR ve INH'e göre daha az oranda direnç göstermektedir. Bu yüzden 2 yaş ve altındaki TB tedavisi alan çocukların, tedavi rejimlerine kombine kullanımında kullanılır (37).
- **Etionamid (ETM):** İkinci kuşak anti-TB arasında bulunan ve birinci kuşak ilaçların tedavi edemediği veya kontrendike durumlarda kullanılır. İzonikotinik asitten üretilmiştir ve bakterisidal etki gösterir. Tam etki mekanizması bilinmemektedir. Fakat INH'de olduğu gibi mikolik asid sentezini inhibe ettiği düşünülmektedir. İlaç sadece oral yolla kullanılır (37).
- **Protionamid:** İlaç INH türevinde olup, farmakolojik özellikleri yönünden ETM'ye benzer. Protionamid ile ETM arasında çapraz direnç görülür (37).
- **Sikloserin:** *Streptococcus orchidaceus* tarafından üretilen geniş spektrumlu bir ilaçtır. Alanin rakemaz ve D-alanil-D-alanin sentaz'ın hareketini kompetitif olarak inhibe eden, A-alanin analogudur. Enzim hücre duvar yapısında bulunan prekürsörleri inhibe ederek hücrenin büyümesinde ve gerilemesinde lizis yolu ile ölümüne neden olur. İlaç özellikle akciğer ve akciğer dışı TB'un tedavi başarısızlığında kullanılır. Günümüzde diğer anti-TB ilaçları ile çapraz direnç görülmemiştir (37).

- **Kanamisin, Amikasin, Kapreomisin:** Bu grupta yer olan ilaçların birçok alanda benzer özellik göstermektedir. İlaç NTM'ler ve ÇİD-TB olgularının tedavisinde kullanılmaktadır. Bu grupta yer olan ilaçların benzer farmakokinetik ve toksisite sahip olmasından dolayı sadece parenteral olarak verilir. Gruptaki ilaçlar ototoksik ve nefrotoksik olduğu için aynı anda birden fazla kullanılmamalı ve STR ile kombine kullanımı gerekir. Kanamisin ve amikasin bir aminoglikozittir. Kapreomisin, *Streptococcus capreolus* tarafından oluşturulan bir antimikobakteriyel siklik peptiddir. Tek başına kullanımında bakteriyel direnç gelişir. İlaça dirençli TB hastalarında diğer ilaçlarla kombine kullanımı tavsiye edilmektedir (37).
- **Florokinolonlar:** Bu grupta yer alan ilaçlar DNA giraz inhibisyonu yaparak bakterisidal etki gösterir. Enzim DNA replikasyonu sırasında protein sentezinde yetersizliğe yol açar. Bu ilacın diğer anti-TB ilaçlar ile etkileşimi önemli olup, RIF ile birlikte kullanımı ile birlikte bakterisidal etkisini azaltabilir. Geniş spektrum etki gösteren ve bu grupta bulunan moksifloksasinin, RIF' ne benzer in vitro etkinlik göstermiştir. Ofloksasin ve siprofloksasin arasında tam çapraz direnç bulunması, in vitro şartlarda siprofloksasin ile moksifloksasin ve gatifloksasin arasında da çapraz direnç olduğunu gösterilmiştir. Bu grupta yer alan ilaçlar iyi tolere edilmektedir. Böbrek yetmezliği bulunan TB hastalarında; siprofloksasin, ofloksasin ve levofloksasinin doz ayarlaması gerekmektedir. Bu gereklilik moksifloksasin için mevcut değildir (37).
- **Linezolid:** Gram pozitif bakterilere karşı geliştirilmiş, sentetik oksazolidinon türevi antibakteriyel ilaçtır. Mikroorganizmanın 50s subünitinin 23s bölümündeki peptidil transferaza bağlanır, 70s başlatıcı kompleks oluşumunu baskılar ve protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki gösterir. Kendine özgü bir etki mekanizması olduğu için diğer antimikrobiyal ajanlara karşı direnç göstermez (49). İlaça karşı direnç nokta mutasyonları ile gerçekleşmektedir. LZD bağlanma noktasındaki azalma 23s rRNA'da gerçekleşir (50). Son dönemlerde özellikle çok ilaca dirençli Gram pozitif bakteriyel enfeksiyonlarda kullanılmaktadır. İlk direnç raporu 2002 yılında, 23s rRNA'daki gen mutasyonu olarak bildirilmiştir. Uzun süre kullanımında başlangıç dozun etkisi azalmakta

ve etki süresi kısalmaktadır (51). RIF ile kombine kullanımında, linezolidin serum düzeyinde azalmasına bağlı olarak ilacın etkisinin azalması gözlemlenebilir bir durumdur (52). Linezolid direnci esas olarak *rrl*'de 2061 nükleotid pozisyonundaki bir mutasyon ve *rplC*'deki T460C mutasyonu ile ilişkilidir (53).

- **Tedizolid:** 2014 yılında FDA onayı almış, faz III aşamasını tamamlamış, aksozolidinon türevidir olup duyarlı ve dirençli Gr (+) bakteriyel enfeksiyonlarda kullanılır. Bakteriyel ribozomun 23s rRNA ile etkileşime girerek translasyonun başlamasını engeller ve protein sentezini inhibe eder (54).
- **Bedaquiline:** ÇİD-TB tedavisinde son 40 yıl içerisinde FDA tarafından Faz III çalışmaları tamamlandıktan sonra kullanımına izin verilen anti-TB ilaçtır. diarilkinolin yapısında, mikobakterilerin ATP sentezi için önemli bir enzim olan ATP sentetazın proton pompasını inhibe eder. Bu etkisi mikobakterilerin ATP'lerine karşı yüksek seçicilik göstermektedir. Yapılan hayvan çalışmaları sonucunda latent ve çoğalan basiller üzerinde eşit miktarda etki göstermektedir. İndüklenen sitokrom P-450 tarafından metabolize edildiği için Rifamisin ailesinden bir ilaç ile alınması önerilmektedir. Toksik özelliği ve güçlü CYP3A4 inhibitörleri ile uzun kullanılmasından ötürü ilaca duyarlı TB tedavisinde kullanımı önerilmemektedir (55, 56).

Şekil 2. 11. Bedaquilinin Etki Mekanizması



- **Delamanid:** Anti-TB aktivitesi tespit edilmiş bisiklik nitroimidazo aksazol yapısında, toksik etkinliği azaltılmış ve anti-TB özelliğini arttırmak amacıyla sentezlenmiştir. Mikolik asit biyosentezini inhibe ederek etkinlik gösterir. Ön ilaç özelliğinde olup, dirençli Rv 3547 mikobakteriler üzerinde metabolize olmamaktadır. OPC-67683 faz III aşamasında olup, tedavideki konsantrasyonu rifamisin gibi sitokrom ile metabolize olan anti-TB ilaçlarla etkileşim göstermemektedir (57).

Deltyba tarafından geliştirilen 2014 yılında kullanımına izin verilen ilacın ÇİD-TB hastaların iyi tolere edildiğini, kültür dönüşümlerini hızlandırdığını ve ölüm oranını düşürdüğü kanıtlanmıştır (58).

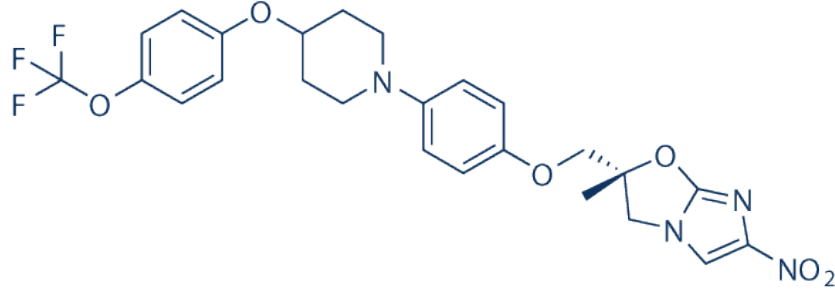
ÇİD-TB, latent TB ve AIDS'li hastalarda kullanımı bulunmaktadır. İlaç flavin-bağlı nitroreduktaz öncülüğünde aktif olmayan majör metaboliti desnitroimidazaoksazol metabolitine dönüştürmektedir. Aktif ÇİD-TB ile anti-TB ilaçlara beraber kullanımı raporlanmıştır (59). Bu ilacın mevcut birinci seçenek ilaçlara karşı çapraz direnci yoktur (60).

Delamanidin kendiliğinden direnç sıklığı araştırıldığında spontan direnç frekansının MIC değeri 0,05 mg/L olarak belirlenmiştir (57).

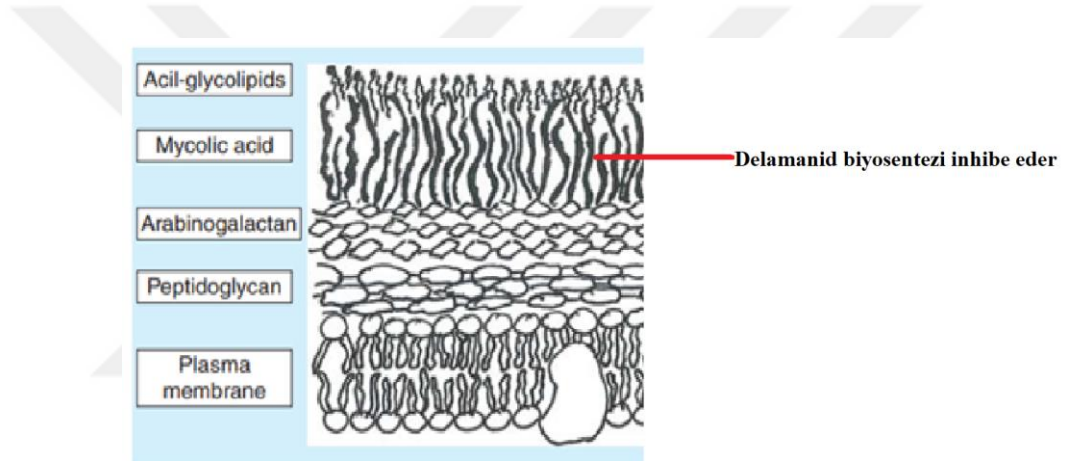
Akciğer ÇİD-TB tedavisi için etkinliğini gösteren Faz IIb çalışmalarında 2014 Nisan ayında onay almış, son 50 yılda başarı ile gerçekleştirilen yeni sınıftaki iki anti-TB ilaçtan biridir. Delamanidin, barsak florasının temel üyeleri de dahil olmak üzere klinik olarak aerobik ve anaerobik bakteri türlerine karşı bir etkinkliği gözlenmemiştir (61).

Delamanid direncinin yapısal temelini aydınlatmayı amaçlayan çalışmalar, *ddn*'de (Rv3547) bir mutasyonun önemini ortaya çıkarmıştır. Ayrıca, ön ilaç aktivasyonu veya teğetsel F420 biyosentetik yolağı ile ilişkili beş gen (*ddn*, *fgdI*, *fbiA*, *fbiB* ve *fbiC*) birkaç dirençli suşta tanımlanmıştır (53).

Şekil 2. 12. Delamanidin kimyasal yapısı (63)



Şekil 2. 13. Mikobakteri hücre duvar yapısında delamanidin etki ettiği bölge (64)



**Mikolik asit biyosentezinin delamanid inhibisyonunun etki bölgesi. Şekil, sol taraftaki *Mycobacterium tuberculosis* membranının yapısını ve sağ taraftaki delamanidin spesifik etki bölgesini göstermektedir. Delamanid, mikolik asit biyosentezini spesifik olarak inhibe eder.

2.9.DİRENÇ MEKANİZMASI

Mikobakterilerde direnç kazanımı diğer mikroorganizmalardan farklı olarak genellikle genlerde meydana gelen spontan mutasyonların sub-optimal suşların tedavi sırasında meydana gelir. ÇİD' in fenotiplerinde sadece tek bir gen mutasyonu ilaç direnci olarak gösterilmez. Diğer ilaçlara karşı gelişen direnç başlangıçta klasik mutasyonlara sebep olur ve bunun yanında mutasyon değişimlerinin birikimi arasında kompleks ÇİD fenotiplerine neden olur. Prokaryot hücrelerde spontan mutasyonlar düşük düzeylerde görülmüş olmasına rağmen; gerçekleşen mutasyonlar baz çiftinin bağlanması ve genomun büyüklüğü ile ters orantılıdır. Yapılan ilk çalışmalarda mutasyonlara seçilen

ilaçlar neden olduğu iddia edilmiş, fakat ilk seçenekte kullanılan anti-TB ilaçların birçoğunda dirence neden olan mutasyonların bilinmesi ve basilde gerçekleşen spontan mutasyonların görülme ihtimalleri de göz önüne alındığında; gerçekleşen her hücre bölünmesinde mutasyonun görülme ihtimali 10 kat olduğu bildirilmiştir. Hesaplamalar göz önüne alındığında; beklenen ve bilinen gen/genlerdeki mutasyon riski; RIF için $3,32 \times 10^{-9}$, INH için $2,29 \times 10^{-8}$ ve aynı anda RIF+INH'da görülme ihtimalinin 1×10^{-14} olduğu bildirilmiştir. Bir kavernde aktif olarak 10^8 bakteri basili görülmesi olasıdır. Basiller arasında intrinsik direnç, kromzomal mutasyonlarla kazanılmış direncin yanında da görülür (62).

Mikobakterilerin hücre duvarında bulunan mikolik asitler, normal yapısal özelliklerin dışında hücre duvar permeabilitesini düşürür ve diğer antibiyotiklerin hücre içerisine girmesini engeller. Bunun yanı sıra aktif olan eflüks pompası sayesinde basillerin florokinolonlara, aminoglikozitler ve tetrasiklinlere karşı doğal dirençler sağladığı bildirilmiştir. Biyoinformatik analizler sayesinde Rv1698 ve Rv1973 suşların dış membranlarında bulunan proteinler bazı antibiyotiklere karşı intrinsik dirençte rol aldığı bildirilmiştir. Tüm bu yapıların varlığı göz önüne alındığında, intrinsik dirençte bu mekanizmalar dışında başka mekanizmaların varlığını göstermektedir. Bunun sonucunda MTB' de bulunan *whiB7* geni bir ÇİD determinantıdır. Bu delesyon sonucunda ise atasal ÇİD determinantı olduğu söylenebilir. İntrinsik direnç faktörü, TB tedavinin başarısı için önemlidir. Tüm bu mekanizmaları inhibe eden yeni ajanların keşfinde *M. tuberculosis*'e karşı etkili potansiyele sahip, fakat rutinde kullanılmayan birçok anti-TB ajanının kullanılması söz konusudur (62).

2.10. Anti-TB İlaçlarında İlaç Direnç Tanımları

2.10.1. Yeni Olguda İlaç Direnci

Tanısı kesinleştirilen olguların 1-3 ay veya daha kısa süre tedavi almış ya da tedavi görmemiş ilaç direncine denir. Primer ilaç direnci olarak da adlandırılmaktadır (63).

2.10.2. Tedavi Görmüş Olguda İlaç Direnci

Hastaların bir aydan daha uzun süre tedavi aldıktan sonraki dirençtir. Eğer alınan ilk tedaviden önce varsa “primer”, tedavi sonrasında ya da başlangıçta gelişmiş dirence “sekonder” ilaç direnci olarak tanımlanır (63).

2.10.3. Çok İlaça Dirençli Tüberküloz

ÇİD-TB, MTB’in diğer anti-TB ilaçlara dirençli olsun veya olmasın en azından günümüzde mevcut en güçlü birinci-basamak anti-TB ilaçlardan olan INH ve RIF'a karşı aynı anda direnç oluşturması durumudur. Direnç gelişen primer ilaçlardan başka diğer ilaçlara karşı da direnç gözlemlenebilir (63).

2.11. Korunma Ve Kontrol

TB basil saçan bir kişinin, sağlıklı bireyler ile aynı ortamda bulunulması sonucunda ve sağlıklı bireylerin basillerin inhalasyonu ile gerçekleşir. Bunun dışındaki bulaşlar önemsizdir Verem savaşın kapsamında;

- Aktif olguların erken tanı ve tedavisi
- Bulaşın engellemesi
- BCG aşısı ile koruma
- Koruyucu tedavi ve/veya latent TB'nin erken tanı ve tedavisini sağlamaktır.

Hastalık 1980'lere kadar kontrol altına alınmıştır. Ancak global hareketliliğin atması, HIV epidemisi, Anti-TB ilaçlara karşı gelişen ilaç dirençlerinden ötürü tekrardan hastalık yükselişe geçmiştir.

2.11.1. BCG Aşısı

Calmette ve Guerin bilim insanlarının 1908 yılında *M. bovis*'i 13 yıl boyunca 230 kere pasaj yaparak, 231. pasajlarında sonra avirulan hale getirmiştir. Hayvanlarda test edilmeye başlanan aşı 1930 yılından sonra insanlarda kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde *M. bovis* BCG suşu kullanılmaktadır. Aşı yapıldıktan sonra basiller

enjeksiyon yerinde üreyerek 1-2 hafta sonra kana karışarak konak organizmaya yayıldığı gösterilmiştir. Milier TB ve TB menenjit komplikasyonlarını en aza indirmektedir. İki aydan büyük çocuklara ilk önce PPD testi ile kontrol edilir ve pozitif olanlara aşı yapılır. BCG aşısı sol deltoid bölgeye intradermal olarak uygulanır. Daha sonra aşı yapılan çocuklara 8-12 hafta sonra tekrardan PPD yapılır ve test sonucu negatif olanlar tekrardan aşılanır. Koruyuculuğu 5-6 yıldır (10).

Akciğer TB'ü önlemede etkinliği %50 civarında olarak kabul edilmesine karşılık, Türkiye'de erişkinlerde %72,7 iken 0-6 yaş grubunda %85 bulunmuştur (38).

2.11.2. Tüberkülin Deri Testi (TDT)

TDT, TB basiline karşı immun yanıt veya enfeksiyon varlığını göstermede kullanılan bir Tip IV aşırı duyarlılık testidir. TDT'inde kullanılan en sık antijen saflaştırılmış protein türevi ya da PPD'dir. PPD testinde kullanılan solüsyonlarda kültürlerden basillerin protein presipitatlarının filtrasyonu ile yapılır. Tüm dünyada PPD-S olarak bilinir ve altın standart olarak kabul edilir. Test sol ön kolun iç kısmına intrakutan olarak verilir. Bu aynı zamanda Mantoux yöntemi olarak bilinir. Kişi eğer daha önce basillerle karşılaşmış ise bellek T hücreleri ortama gelir ve lenfokinler salgılanır. Salgılanan lenfokinler enjeksiyon verilen bölgede inflamatuvar hücrelerin toplanması, fibrinlerin birikimi, vazodilatasyon ve ödeme neden olur. Test 5-6 saat içinde reaksiyonu başlatır ve maksimum 72 saatte maksimuma ulaşır (28).

2.12. Tüberküloz Tanı Yöntemleri

2.12.1. Mycobacterium tuberculosis'in Mikrobiyolojik Tanısı

Hastalığın bulunduğu bölgeye göre aktif TB tanısı; balgam, plevra, periton, beyin omirilik sıvısında örnek alınarak konulur. Son dönemlerde yeni tanı yöntemleri geliştirilmiş olsa da mikobakterilerin tanısında mikroskopi ve Löwenstein-Jensen (LJ) besiyerinde kültür altın standart olarak kabul edilmektedir (5, 64).

2.12.1.1. Fenotipik Yöntemler

2.12.1.1.1. Mikroskopi

Mikobakteriler aside dirençli mikroorganizmalar olduğu için temelde iki boyama yöntemi kullanılmaktadır. Basiller Karbolfüksin yönteminde (Ziehl-Neelsen, Kinyoun) mavi zemin üzerinde kırmızı renkte, florokrom yönteminde (auramin O, auramain-rhodamin) ise sarı-oranj renkte floresan görüntüsü verir. Boyama yöntemlerinde %22-80 oranında duyarlılık gösterir. Mikroskopi de basillerin görülmesi için balgamın her ml' sinde 5000-10000 basilin bulunması gerekmektedir (65).

Mikroskobide değerlendirme yapılması için en az 300 mikroskop alanı taranması gerekir. Değerlendirilen alanda basil görülmemesi, negatif olarak kabul edilir. Birkaç basilin görülmesinde şüpheli, 100 alanda 1-9 basil görülmesinde (+), 10 alanda 1-9 basil görülmesi (++), her alanda 1-9 basil görülmesi (+++), her alanda 10 ve üzeri basil görülmesi (++++) olarak raporlanır (65).

2.12.1.1.2. Kültür Ortamında İzolasyon Yöntemleri

Mikobakteriyel kültür yöntemleri olarak katı ve sıvı besiyeri olmak üzere ikiye ayrılır. Katı besiyerlerinde yumurta bazlı ve agar olmak üzere iki tür besiyeri kullanılmaktadır. Günümüzde en çok Petragami ve American Trudeau Society gibi katı besiyerleri haricinde Löwenstein-Jensen (LJ) en yaygın kullanılan besiyeridir. İçeriği sayesinde kontaminasyonu engeller ve mikobakteriler için uygun üreme koşullarını sağlar. Agar bazlı en çok tercih edilen besiyerleri; Middlebrook 7H10 ve Middlebrook 7H11'dir. Bactec 460TB, Bactec 900 MB, Bactec MGIT 960, , ESPII, MB Redox, MB/BacT ALERT 3D gibi çeşitli sıvı besiyerleri bulunmaktadır. Mikobakterilerin izolasyonu için modifiye Kirchner besiyeri kullanılmaktadır. (65).

2.13. Duyarlılık Yöntemleri

TB tedavisinde başarı sağlanabilmesi için, ilaç duyarlılık testinin yapılması son derece önemlidir. Duyarlılık sonuçları olmadan yapılan tedaviler direnç gelişimini ve tedavi

başarısızlığını arttırmaktadır. CDC ve DSÖ'nün yayınladığı rehberlerde basilin izole edildiği her hastada, üç aylık tedaviden sonra yayma ve kültür pozitifliği devam edenler ve tedavilerinde klinik yanıt alınamayan hastalarda direnç testinin yapılmasını önermektedir.

Bunun haricinde direnç tespit edilmiş hastalarla temas öyküsü bulunan, kaviter lezyonu olan HIV ile infekte hastalar ve yüksek ilaç direnci bulunan bölgelerde (primer izoniazid direnci %4'den fazla) hastalık etkeni tespit edilmiş kişiler için tedaviye başlanmadan önce direnç durumunun bilinmesi önem taşımaktadır.

Anti-TB ilaçlara karşı duyarlılığın belirlenmesinde en hızlı ve güvenilir yöntemi sağlamada değişik tekniklere dayalı yöntemler kullanıma girmiştir. Bunlardan en yaygın olarak kullanılanlar

1. Anti-TB ajanı bulunan ya da bulunmayan kültür ortamında üremenin makroskopik olarak takibi
2. Metabolik aktivitelerin tespiti ve ölçümü
3. Mikobakteriofaj lizisi
4. Moleküler yöntemlerle genetik mutasyonların belirlenmesi temeline dayanır.

Basillerin anti-TB ilaçlara karşı ilaç duyarlılığın belirlenmesinde direkt ve indirekt metotlar yöntemler kullanılmaktadır.

Direkt yöntemler; preparatı hazırlanan klinik örneklerde mililitresinde basil sayısının hesaplanması, homojenizasyon-dekontaminasyon işlemlerinin sonrasında besiyerine ekimi işlemlerini kapsamaktadır.

İndirekt yöntemler; klinik örneklerin saf kültürlerinde aside dirençli basillerin izole edilmesi ve uygun inokulümler hazırlanarak besiyerlerine ekimi yapılır.

Anti-TB ajanlara yönelik kullanılan antibiyogram yöntemleri;

1. Fenotipik yöntemler
 - i) Klasik Kültür Yöntemleri: Orantı (proporsiyon) Yöntemi, Mutlak Konsantrasyon Yöntemi, Direnç Oranı Yöntemi

2. Hızlı Kültür Yöntemleri
 - ii) Radyometrik Kültür Sistemi
 - iii) Floresan Kültür Sistemi
 - iv) Kolorimetrik Kültür Sistemi
 - v) Karbondioksit Oluşumunu Saptayan Sistem
 - vi) E-test

3. Bakteri Varlığına Dayanan Yöntemler
 - i) Lusiferaz Taşıyıcı Faj Yöntemi (LRP)
 - ii) Biyoluminesans Yöntemi
 - iii) Flow Sitometri Yöntemi

4. Genotipik Yöntemler
 - i) DNA Dizi Analizi
 - ii) Ters Hibridizasyon
 - iii) RNA/RNA Mismatch Analizi
 - iv) PCR-SSCP (Single-Strand Conformational Polymorphism)
 - v) Heterodubleks Analiz
 - vi) Real Time-PCR
 - vii) DNA Microarray (66, 67).

2.13.1. Fenotipik Yöntemler

Bu yöntemin değerlendirme aşamasında kritik konsantrasyon ve kritik proporsiyon kavramları önem taşır. Kritik konsantrasyonda; besiyerlerine ilaç eklenerek, belirli miktarda ve/veya oranda bakterinin üremesine izin verilir ve antibiyotik konsantrasyonu teyit edilir.

Kritik proporsiyon belirli bir konsantrasyonda üreyen bakteri popülasyonu oranıdır. Yapılan çalışmalarda anti-TB ajanlara karşı dirençli basil oranında %1 düzeyi genel olarak kriter alınmaktadır. Ajanın bulunduğu besiyerinde çoğalan mikobakterilerin sayısı eğer %1'in altında ise duyarlı, %1'in üzerinde ise dirençli olarak kabul edilir (66).

2.13.1.1. Orantı (Proporsiyon) Yöntemi

Dirençli basillerin anti-TB ajanlara karşı oranı kriter olarak %1 düzeyinde ayarlanır. Oranı tayin etmek için besiyerinde kullanılan bakteri miktarı ilacın eklendiği besiyerinde 100 kat daha azdır. Ajanın bulunduğu besiyerinde üreyen kolonilerin miktarı, kontrol besiyerindeki kolonilerin miktarı ile karşılaştırılır. Dirençli basiller ajana karşı test edilen popülasyon yüzdesi olarak belirlenir (66).

Bu test için ajan eklenmiş LJ besiyeri ve/veya Middlebrook 7H10 kullanılır. Kültürde üretilen basiller Mc Farland No:1,0 bulanıklığına ayarlanır. 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} ve/veya 10^{-2} , 10^{-4} 'lük dilüsyonlar yapılır. Dilüsyonu yapılan süspansiyonlardan ilaç içermeyen kontrol besiyerine ve ajanın eklendiği besiyerine ekim yapılır. Kültürler 3-4 hafta 37 °C'de inkübe edildikten sonra koloni sayımı yapılır. Belirlenen ajana karşı test edilen basillerin oranı %1'in altında ise duyarlı, %1'in üstünde ise dirençli olarak yorumlanır.

Oran hesaplamada kullanılan formül;

$$\text{Direnç Yüzdesi} = \frac{\text{Ajanın bulunduğu besiyerindeki koloni sayısı} \times 100}{\text{Kontrol besiyerindeki koloni sayısı}}$$

İndirekt olarak yöntemde, kültürde üremiş basiller ve/veya ARB boyama sonrasında mikroskopide görülen klinik materyalden yapılabilir. Validasyonu sağlanmış ve kabul görmüş bir yöntemdir (66).

2.13.1.2. Mutlak Konsantrasyon Yöntemi

Anti-TB ajanları içeren ve içermeyen besiyerlerine 2×10^{-3} - 1×10^{-4} cfu/ml mikobakteriler inokülom edilir. Değerlendirme 14 gün sonra yapılır ve son değerlendirme de 4. haftanın sonunda yapılır. Koloni sayısı 20 den fazla olması besiyerinde, basillerin dirençli olduğunu şeklinde yorumlanır (66).

2.13.1.3. Direnç Oranı Yöntemi

Farklı oranda dilüsyonlar içeren ajanların bulunduğu besiyerlerine ekilen mikobakterilerin MİK değeri belirlenir. Testte tüm anti-TB ajanlarına duyarlı olduğu bilinen H37Ra 25177'da inküle edilir. Ekilen basillerin H37Ra25177'nin MİK değerinden 8 kat ve/veya yüksek ise dirençli olarak yorumlanır (66).

2.13.2. Hızlı Kültür Yöntemleri

2.13.2.1. Radyometrik Kültür Sistemi (Bactec 460-Becton Dickinson)

Standart bir yöntem olarak CLSI'nın (Clinical and Laboratory Standarts Institue) belirlediği standartlar kabul edilir. Çalışma prensibi; Bactec 12B şişeleri, besiyeri olarak kullanılır ve içerisine palmitik asit bulunur. İnoküle edilen basiller substratları primer karbon ve enerji kaynağı olarak kullanır. Ortama $^{14}\text{CO}_2$ 'yi açığa çıkartır. Metabolik son ürün olan $^{14}\text{CO}_2$ Bactec 460 cihazı şişelerindeki radyoaktiviteyi ölçer ve 0-999 sınırları içerisinde sayı olarak sonuç verir. Besiyerlerinde oluşan $^{14}\text{CO}_2$ miktarı, oranı üremenin bir sonucu olduğu için doğru orantılı şekilde artar.

Bu yöntemle birince seçenek olarak kullanılan anti-TB ilaçlara karşı duyarlılıkları hızlı bir şekilde test edilir ve 3-5 gün içerisinde sonuçlanır. Dirençli basillerin oranını belirleyememesi ve radyoaktif madde kullanılması en büyük dezavantajıdır. Testin agar orantı yöntemiyle %90 uyum sağlaması CLSI tarafından standart yöntem olarak tavsiye edilmektedir (66).

2.13.2.2. Floresan Kültür Yöntemi (Bactec-MGIT 960–Becton Dickinson)

Besiyeri olarak kullanılan Middlebrook 7H9'un alt kısmında ruthenium kompleksi bulunur ve kapakları silikon ile kaplıdır. Oksijen yoğunluğunun fazla olması tüplerde, UV ışınlarına karşı ışınmaya meydana gelmesinden dolayı, mikobakteriler tarafından O_2 'nin kullanılması ve CO_2 'nin birikmesi sonucunda UV ışınları ruthenium kompleksin değişikliğe neden olarak floresan renk verir. Floresan miktarı indeks olarak kabul edilir ve kültür pozitifliği olarak değerlendirilir.

Antibiyotik duyarlılığı, ilaçlı ve ilaçsız tüplere aynı miktarda basillerin inokülomu yapılır. İnkübasyona bırakılarak üreme durumları kontrol edilir. Basillerin üremesi ve saptanması teknik olarak BACTEC 480 ile aynıdır. Kontaminasyon oranının yüksek ve radyoizotop kullanılması dezavantajdır (66).

2.13.2.3. Kolorimetrik Kültür Sistemi

- **BacT/ ALERT MD:** Mikobakterilerin üremesini besiyerlerde oluşan CO₂ miktarına göre belirler. Tam otomatize olması, bilgisayar ile desteklenmesi ve radyoizotop içermemesi en önemli avantajdır. Testlerin sonuçlanması BACTEC 460'a göre daha uzun olması dezavantajdır (68).
- **Rezasurin/ Alamar Mavisi Oksidasyon Göstergesi:** Rezasurin ve/veya Alamar mavisi olarak bilinen indikatörler bakterilerin üreme durumuna göre mavi renkten pembe renge dönüşen boyalardır. Birçok bakteride antibiyotik duyarlılık testlerinde kullanılan bu indikatörler ile yapılan çalışmalar sonucunda Mikobakteriler için de kullanılabileceğini göstermiştir. Basiller Middlebrook 7H9 sıvı besiyerinde üretilir ve Mc Farland No:1,0'a göre süspansiyon hazırlanır. Hazırlanan süspansiyonlar buyyonda 1:5 oranında sulandırılarak, teste alınan anti-TB ajanları sıvı besiyerinde çift kat sulandırılır. Dilüe edilen tüplere, kültür süspansiyonları eklenir. Testte kullanılan son mikroorganizma sayısı 6×10^5 cfu/ml' dir. Aynı şekilde ilaç içermeyen üç tüpe de ekim yapılır ve tüm tüpler 35°C' de inkübasyona bırakılır. Kontrol tüpleri 7.,10. ve 14. günlerdeki değişimlerine bakılarak ilaç içeren tüplerin hazır olup olmadığı anlaşılır. Kontrol tüpüne 0,02 ml alamar mavisi ve/veya 0,05 ml rezasurin solüsyonu 0,05 ml %5'lik Tween⁸⁰ eklenir. 2 saat 50 °C' de inkübe edilir. Bu sürenin sonunda tüplerdeki rengin maviden pembe renge değişimini engelleyen ilaç konsantrasyonu MIK olarak yorumlanır. Kantitatif, hızlı ve radyoizotop içermemesi avantaj sağlamaktadır. Testin yorumlanması agar orantı yöntemi ile %97 oranında uyum göstermektedir (68).
- **Karbondioksit Oluşumunu Tespit Eden Sistem: ESP Kültür Sistemi:** Besiyeri olarak Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri kullanılır. Mikobakterilerin

metabolizmaları sonucunda oluşturduğu gazların ölçülümüne dayanmaktadır. Radyoizotop içermemesi ve bilgisayar destekli olması avantaj sağlar (68).

2.14.2.5. E-Test

Birinci ve ikinci kuşak olarak kullanılan anti-TB ajanların MİK değerlerini belirlemek için kullanılan basit ve ucuz bir yöntemdir. Uygulama sırasında, testin okunmasında tecrübe ve dikkat içermesi dezavantaj sağlar (66).

2.14.3. Bakteri Varlığına Dayanan Yöntemler

2.14.3.1. Lusiferaz Taşıyıcı Faj Yöntemi

Ateş böceğinin kuyruğunda bulunan ve lusiferaz genini taşıyan bir enzim kullanılır. Genin transkripsiyonun ve fajların çoğalması sonucunda bol miktarda lusiferaz enzimi oluşur. Bununla beraber ortamda substrat olarak lusiferin eklendiğinde, mikobakterilerin hücre duvar yapısında adenozin trifosfat (ATP) varlığı ile katalize olur. Bu oluşum sırasında ışık meydana gelir ve fotometre ile yoğunluğu ölçülür. Oluşan ışığın yoğunluğu canlı basil ile doğru orantılıdır. Anti-TB ajanlara duyarlı basillerde ışık meydana gelmez fakat dirençli olanlarda ışık varlığı devam eder (66).

2.14.3.2. Biyoluminesans Yöntemi

Kültürlerden ATP'nin ekstraksiyonu ve ölçümüne dayalı bir yöntemdir. Bu yöntemde ATP'yi monitorize ederek ışık üretimi luminometre ile ölçülür. Oluşan ışık miktarı ortamdaki canlı basil sayısı ile doğru orantılıdır. Anti-TB ajanlara duyarlı basillerde ışık meydana, gelmez, ancak dirençli basillerde ışık varlığı devam eder (66).

2.14.3.3. Flow Sitometri Yöntemi

Testin temeli MTB'nin floroserin diasetat (FDA)'ı hidrolize edilmesi ile basillerin flow sitometri analize ile tespitine dayanır. Duyarlı olan basiller anti-TB ajanlarla beraber

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)'yı düşük miktarda hidrolize eder. En büyük avantajı 24 saatte sonuç vermesidir (66).

2.14.4. Genotipik Yöntemler

Moleküler çalışmalar, 1960'lı yıllardan bu yana ciddi mesafeler kat etmiştir. MTB'e karşı direncin belirlenmesinde az miktarda üreme gerektirmesi ve hızlı sonuç vermesi avantaj sağlamıştır. Fakat dirence neden olmayan sessiz mutasyonları tespit edememesi dezavantaj sağlar. Genellikle INH ve RIF direncinin saptanmasında kullanılır (68).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi'nin 2019/223 sayı ve 03/07/2019 tarihli etik kurul onayı ve Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Biriminden sağlanan destek (GAÜNAP-TF.YLT.19.56) ile yapılmıştır. Çalışmada Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD kültür koleksiyonunda bulunan, konvansiyonel yöntemlerle aynı anda RIF ve INH direnci saptanan 50 adet *M. tuberculosis* izolatu dahil edilmiştir. Çalışma Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Araştırma Laboratuvarında yapıldı.

Çalışma öncesinde tüm izolatların LJ besiyerinde sub kültürlerine ekimi gerçekleştirildi. Kalite kontrol için ATCC-27294 H37Rv suşu kullanıldı.

3.1. Middlebrook 7H9 Broth Besiyerinin Hazırlanması

Ticari olarak temin edilen toz halindeki besiyeri, hassas terazide 4,7 gr tartıldı ve borosilikat şişeye aktarıldı. Üzerine 2 ml gliserol ve 900 ml distile su eklendi. Borosilikat şişenin ağız kısmı steril gazlı bez ile kapatıldı. Hazırlanan besiyeri 121 °C' de 10 dakika 1 atm basınç altında otoklavlandı. Benmari de otoklavdan alınan besiyeri 50 °C' ye kadar soğutuldu. Besiyeri içerisine 100 ml ADC (Albumin Dextrose Catalase Growth Supplement) supplement ve %2'lik Tween⁸⁰® (Sigma-Aldrich) eklendi. Hazırlanan besiyeri kullanım süresine kadar +4 °C'de muhafaza edildi (69).

3.2. Rezasurinin Hazırlanması

Ticari olarak temin edilen Rezasurin tozu (Acros, Morris Plains, NJ, USA) %2'lik olacak şekilde hassas terazide tartılarak steril borosilikat şişeye aktarıldı. Hazırlanan çözelti kullanılıncaya kadar +4 °C'de muhafaza edildi (70).

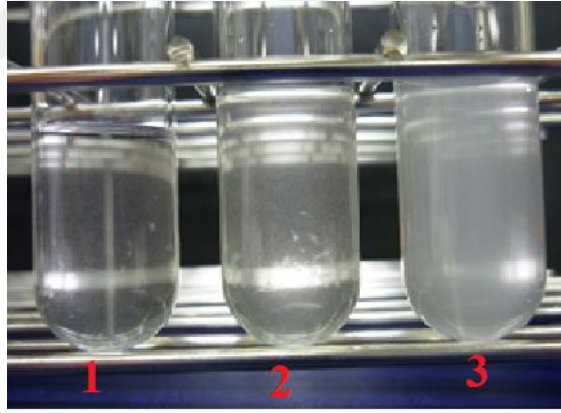
3.3. McFarland Hazırlanması

McFarland 0,5 standardı oluşturmak (1×10^8 CFU/mL) için Sülfürik asit (H_2SO_4) ve Baryum klorür ($BaCl_2$) molar eriyiklerinden % 1'lik çözeltiler hazırlandı ve tabloda gösterilen oranda karıştırıldı (Tablo 3.1). Hazırlanan çözelti çalışma günü referans alınarak, süspansiyonların bulanıklıkları ayarlandı (Resim 3.1) (71).

Tablo 3. 1. McFarland Türbidite Standardı No: 0,5

H_2SO_4 , 0,18 M	99,5 mL
$BaCl_2$, 0,048 M	0,5 mL

Resim 3. 1. McFarland değerleri (Bir numaralı tüp McFarland No: 0.5, iki numaralı tüp McFarland No: 1.0 ve üç numaralı tüp McFarland No: 2.0)



3.4. İlaç Stok Solüsyonunun Hazırlanması

Çalışmadaki antibiyotik etken maddelerin üretici firma önerileri ve CLSI kriterlerine göre uygun çözücüler ile sulandırılarak, stok solüsyonları hazırlandı

Anti-TB ilaçların miktarları $Ağırlık (mg) = Hacim (mL) \times Konsantrasyon (\mu g/mL) / Potens (\mu g/mg)$ formülüne göre hazırlandı. Her antibiyotik için potens değerlerinin belirlenmesinde üretici firmaların analiz sertifikaları temel alındı. Kullanılan

antibiyotikler hassas terazide tartılarak, çözücülerine eklendi ve stok solüsyonlar hazırlandı (Tablo 3.2) .

Tablo 3. 2. Hazırlanan Anti-TB İlaçlarının Çözücüsü ve Konsantrasyonu

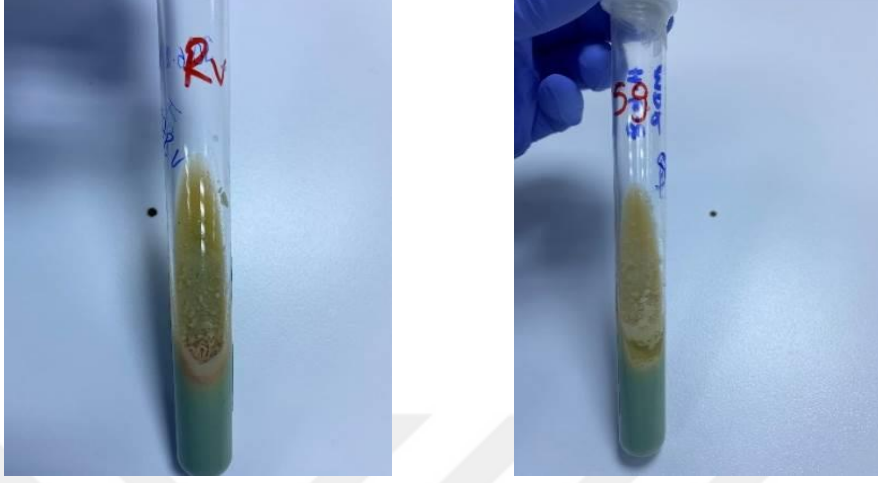
	Çözücüsü	Son Konsantrasyon
Tedizolid (BLDPharm)	Dimetil sülfoksit (DMSO, (CH ₃) ₂ SO)	1 µg/ml
Linezolid (BLDPharm)	DMSO	1 µg/L
Delamanid (BLDPharm)	DMSO	1 µg/L

Hazırlanan ilaçlar 0,22 µm çaplı membran filtreden geçirilerek steril edildi (70). İlk %10-15'lik kısımları atıldıktan sonra, kriyo tüplere aktarıldı. Test süresine kadar - 20 °C' lik derin dondurucuda saklandı. Çalışma günü oda ısısında 20 dakika bekletilerek kullanıldı.

3.5. İzolatların Yeniden Canlandırılması

Stok kültürler oda ısısında çözülünceye kadar bekletildi. Çözülen süspansiyonlar vortekslenerek, LJ besiyerine 300 µl ekimi yapıldı. Besiyerleri 6-8 hafta boyunca 37 °C' de inkübe edildi (Resim 3.2) (68). Besiyerleri üreme bakımından haftada 2 kez kontrol edildi. Üremiş kültürlerde McFarland No: 0,5 standardına uygun olarak test süspansiyonları hazırlandı (Resim 3.1) (72).

Resim 3. 2. LJ Besiyerinde üreme durumu

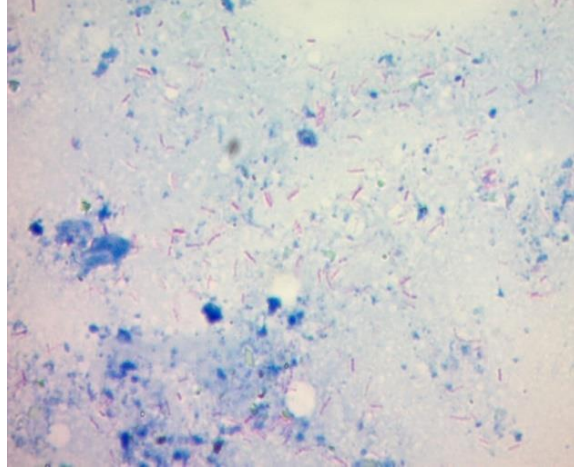


3.6. Preparatların Ehrlich Ziehl Neelsen (EZN) Metodu ile Boyanması

3.6.1. EZN Boyama

Mikroskopi için lamalar, %70'lik alkol ile temizlendikten sonra, bir damla serum fizyolojik damlatıldı. Yayma işlemleri sınıf II Biyogüvenlik Kabini içerisinde yapıldı. LJ besiyerinde üreyen bakteri kolonilerinden öze ile alındıktan sonra, lam üzerinde serum fizyolojik ile dairesel hareketler ile karıştırılarak yayma yapıldı. Hazırlanan yaymalar 20 dk UV lamba altında bekletildikten sonra kabin içerisinde kurumaya bırakıldı. Kuruma işleminden sonra mikro insineratör cihazında lamalar 2-3 kez yalıtılarak fiksasyon işlemi gerçekleştirildi. Preparatlar boyama alanına alınarak üzerine karbol fuksin döküldü. Boya ile 2-3 dk bekletilirken altından alev geçirildi. Alev işleminde preparatların üzerinde buhar çıkacak ama kaynamayacak şekilde geçirildi. Daha sonra preparatlar steril su ile yıkandı. Üzerine asit-alkol karışımı dökülerek, renksizleşene kadar bekletildi. Tüm bu işlemlerden sonra preparat zıt boya olan metilen mavisi ile 30-45 sn bekletilerek boyandı. Bekletme işleminden sonra steril su ile yıkama işlemi yapıldı ve havada kurumaya bırakıldı. Kuruyan preparatlar 100'lük objektif ve immersiyon yağı kullanılarak ışık mikroskopunda incelendi.

Resim 3. 3. Boyaması yapılan suşların mikroskopi görüntüsü

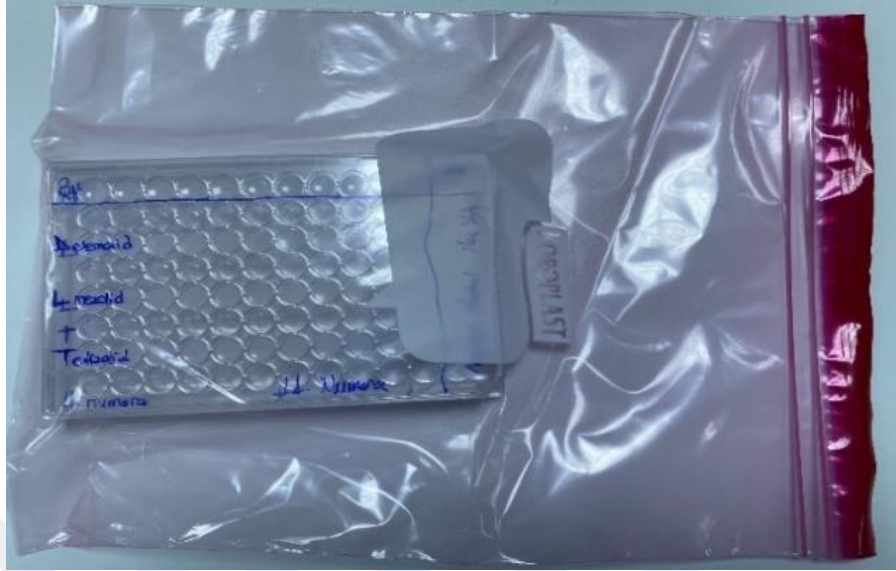


3.7. Rezasurin testi

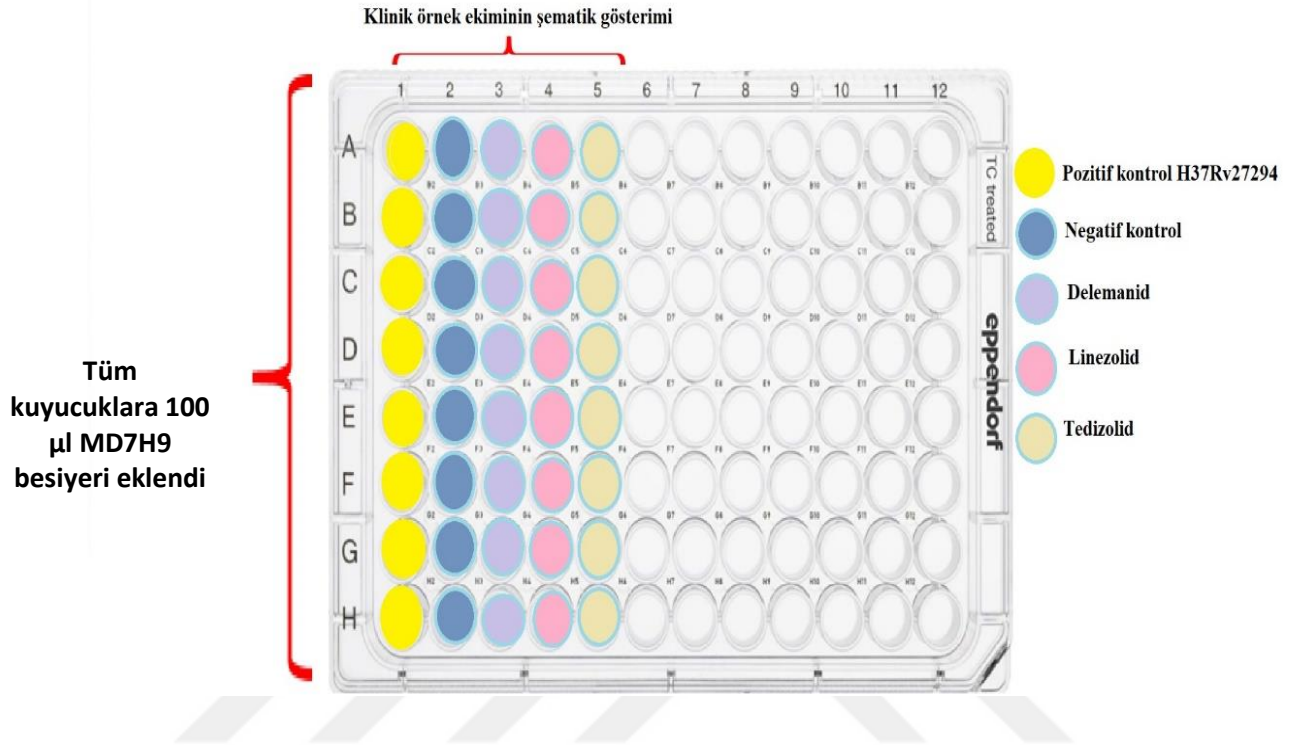
Hazırlanan MB7H9 içerisine % 10'luk ADC ve % 2'lik Tween80® ilaveli besiyeri oda ısısında alındı. Bekletildikten sonra McFarland 0,5 standardına göre hazırlanan kültür süspansiyonları LJ besiyerinde üretilen en az beş haftalık koloniler steril cam boncuk içeren steril tüplere ilave edildi ve en az 60 sn vortekslendi. Vortekslenen süspansiyonlar oda ısısında en az 15 dakika bekletildi (72).

Steril pipet ucu kullanılarak pleyttteki tüm kuyucuklara 100 µl MB7H9 besiyeri karışımı eklendi. Birinci kuyucuğa hazırlanan antibiyotikten 100 µl eklendi. Dilüe edildikten sonra 100 µl alınarak 2. kuyucuğa eklendi. Aynı işlemler 8. kuyucuğa kadar seri dilüsyon şekilden devam edildi. Dilüsyonlar tamamlandıktan sonra, ilaç içeren içermeyen tüm kuyucuklara 100 µl bakteri süspansiyonu inoküle edildi (Şekil 3.1) (56, 72, 73). Tüm işlemler tamamlandıktan sonra pleytin yüzeyi steril yapışkanlı film ile kapatıldı. Pleyt şeffaf kilitli poşetlere yerleştirilerek, 37 °C' de inkübe edildi (Resim 3.4) (70). Tüm bu işlemler 30 dk içinde gerçekleşti. Tüm işlemler biyogüvenlik kabininde yapıldı. Pleytler 5 ve 6. günde üreme bakımından kontrol edildi (Resim 3.5).

Resim 3. 4. İnkübasyon öncesi pleytin kapatılması (Steril yapışkanlı film ile kaplanarak ve steril kilitli poşete konulmuştur)

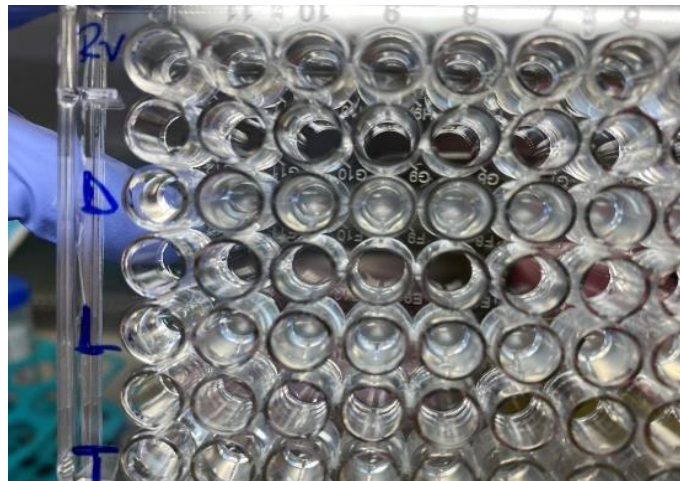


Şekil 3. 1. Testin şematik gösterimi (Anti-TB pleytindeki antibiyotiklerin konsantrasyonları DLM: 1-0,008 mg/ml, LZD: 1-0,008 mg/L, TZD: 1-0,008 mg/mL şekilde çalışılmıştır. Kısaltmalar DLM, delamanid; LZD, linezolid; TZD, tedizolid)



Çalışmamızda kullanılan ilaçların başlangıç konsantrasyonu, bu alanda yapılmış çalışmalar dikkate alınarak hesaplanarak kullanıldı. Delamanid ve Tedizolid ilaçlarının başlangıç konsantrasyonu 1 mg/mL olup 0,008 mg/mL’de ve Linezolid ilacın ise 1 mg/L konsantrasyonundan başlanıp 0,008 mg/L dilüsyonundan tamamlanmıştır.

Resim 3. 5. Plakta üreme görüntüsü

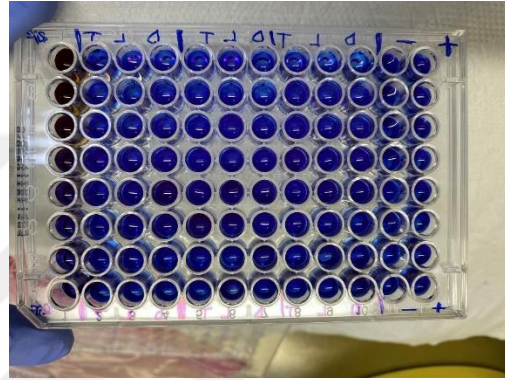


Testin geçerliliği için öncelikle pozitif kontrol kuyucukları üreme yönünden kontrol edildi. Çalışmanın 8. gününde kilitli poşetlerde bulunan pleytler, etüvden alınarak her bir kuyucuğa 15 µl %2'lik rezasurin eklendi (Resim 3.6, 3.7).

Resim 3. 6. Rezasurin Ekleme İçin Kilitli Poşetlerde Bulunan Pleytlerin biyogüvenlik kabini' den Çıkarılması

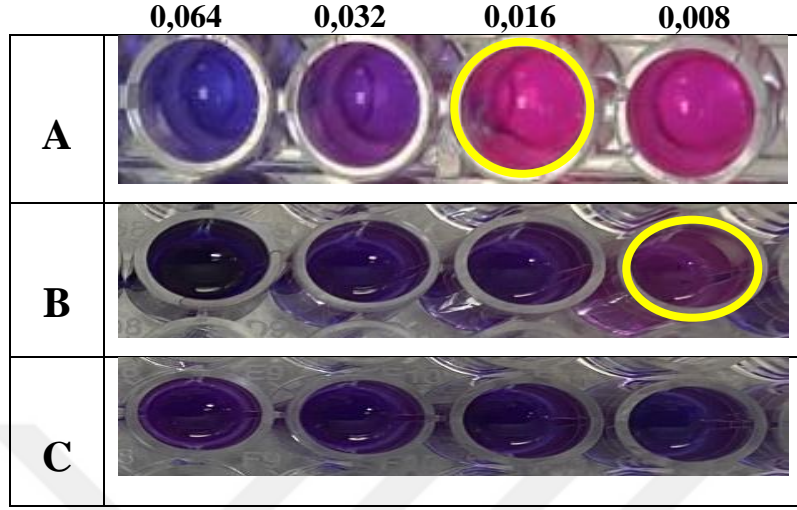


Resim 3. 7. Rezasurin eklenmiş pleyt görünümü



Pleytler kilitli poşetlere yerleştirilerek 24-36 saat 37 °C'de inkübe edildi. Bu süre sonunda pleytler MIC yönünden değerlendirildi. Tüm çalışmalar biyogüvenlik önlemlerine dikkat ederek Biyogüvenlik Sınıf 2 (BGK-S2) olan kabinde gerçekleştirildi. Çalışmanın kontrolünü sağlamak için H37Rv 27294 suşu kullanıldı. REMA (Resazurin microtiter assay) testinde floresan olmayan oksitlenmiş boyanın, canlı hücrelerin ortamında pembe floresan olan resorutin indirgenmiş forma dönüşmesi esasına dayanır. Renkte maviden pembeye değişiklik bakteri üremesini göstermektedir. MIC değerini belirleme esasında; mavi renk kuyucukları negatif, mavi renkten pembe renk geçişinin olduğu kuyucuk pozitif olarak raporlandı ve renk değişiminin olduğu kuyucuk MIC değeri olarak değerlendirildi (Resim 3.8) (70, 74).

Resim 3. 8. Kritik konsantrasyonlarının belirlenmesi (A: DLM 0,016 mg/mL, B: LZD 008 mg/L,C: TZD <0,008 mg/mL)



Değerlendirme sonrasında tüm kuyucuklara %10'luk Sodyum hipoklorit eklendi ve 15-20 dk bekletildikten sonra otoklavlanarak imha edildi (Resim 3.9)

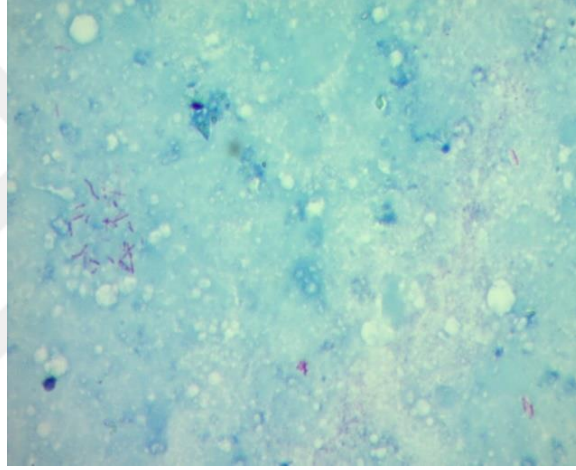
Resim 3. 9. Çalışmanın sonlandırılması



4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen, INH ve RIF'ine aynı anda direnç gösteren 50 adet *M. tuberculosis* izolatının alt kültüründe 42 izolatta üreme saptandı. Üreyen izolatlardan EZN yöntemi ile yapılan ARB boyamada 42 izolatın mikroskopisinde MTBK basilleri gözlendi (Resim 4.1).

Resim 4. 1. EZN Boyaması Yapılan Kültürlerin Mikroskopi Görüntüleri



Testin geçerliliği için aynı anda randomize seçilen izolatlarda aynı anda RIF ve INH ilaçları için mikrodilüsyon çalışılmıştır. Randomize seçilen 14 izolatların hepsinde aynı anda RIF ve INH direnci tespit edilmiştir. Çalışmadaki bütün izolatların MIC değerleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4. 1. Çalışılan izolatların MIC değerleri

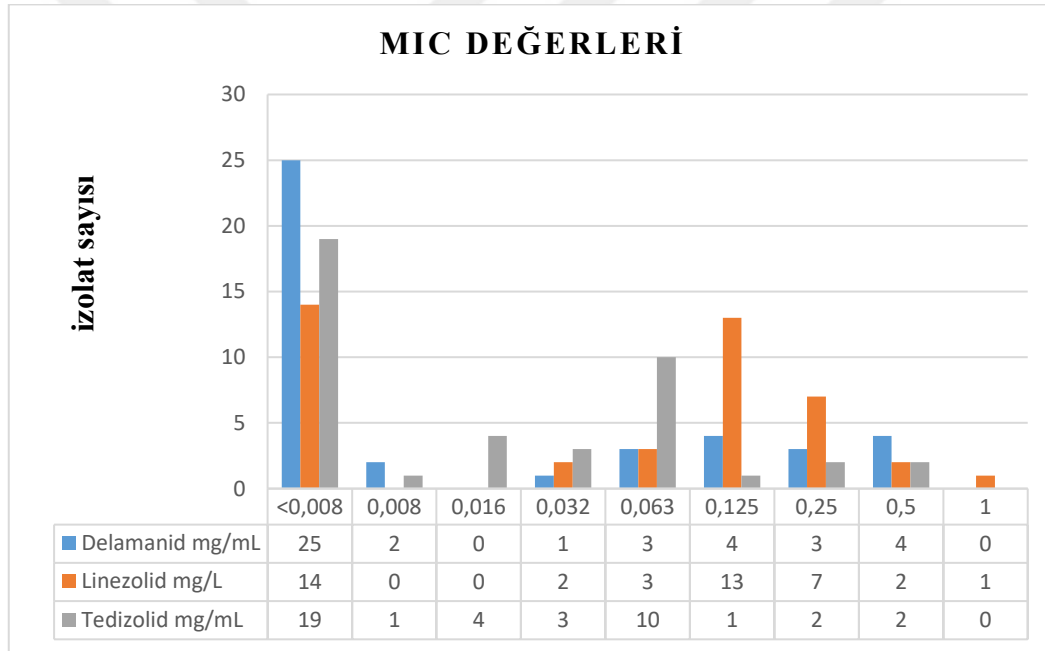
	DELEMANİD	LİNEZOLİD	TEDİZOLİD
1	<0,008 mg/mL	<0,008 mg/L	<0,008 mg/mL
2	<0,008 mg/mL	0,25 mg/L	0,004 mg/mL
3	<0,008 mg/mL	<0,008 mg/L	<0,008 mg/mL
4	<0,008 mg/mL	<0,008 mg/L	<0,008 mg/mL

5	<0,008 mg/mL	<0,008 mg/L	<0,008 mg/mL
6	<0,008 mg/mL	<0,008 mg/L	<0,008 mg/L
7	0,5 mg/mL	>1 mg/L	0,063 mg/L
8	<0,008 mg/L	<0,008 mg/L	<0,008 mg/L
9	<0,008 mg/L	0,25 mg/L	<0,008 mg/L
10	<0,008 mg/L	<0,008 mg/L	<0,008 mg/L
11	<0,008 mg/L	<0,008 mg/L	<0,008 mg/L
12	0,004 mg/L	<0,008 mg/L	0,016 mg/L
13	<0,008 mg/L	<0,008 mg/L	<0,008 mg/L
14	<0,008 mg/L	<0,008 mg/L	<0,008 mg/L
15	<0,008 mg/L	<0,008 mg/L	<0,008 mg/L
16	<0,008 mg/L	0,25 mg/L	0,063 mg/L
17	0,008 mg/L	0,125mg/L	0,063 mg/ml
18	<0,008 mg/L	0,125mg/L	0,016 mg/L
19	<0,008 mg/L	0,125mg/L	0,063 mg/L
20	<0,008 mg/L	0,063 mg/L	0,016 mg/L
21	<0,008 mg/L	0,125mg/L	0,063 mg/L
22	<0,008 mg/L	0,125mg/L	0,031 mg/L
23	0,5 mg/L	0,5 mg/L	0,5 mg/L
24	<0,008 mg/L	<0,008 mg/L	<0,008 mg/L
25	<0,008 mg/L	0,031 mg/L	<0,008 mg/L
26	0,5 mg/L	0,5 mg/L	0,5 mg/L
27	0,063 mg/L	0,125mg/L	0,063 mg/L
28	0,5 mg/L	0,25 mg/L	0,25 mg/L
29	<0,008 mg/L	0,125mg/L	0,004 mg/L
30	0,25 mg/L	0,25 mg/L	0,063 mg/L
31	<0,008 mg/L	<0,008 mg/L	<0,008 mg/L
32	0,008 mg/L	0,125mg/L	0,008 mg/L
33	0,031 mg/L	0,125mg/L	0,016 mg/L
34	<0,008 mg/L	0,063 mg/L	<0,008 mg/L
35	0,125 mg/L	0,25 mg/L	0,031 mg/L
36	0,25 mg/ml	0,125mg/L	0,25 mg/L

37	0,063 mg/L	0,063 mg/L	0,063 mg/L
38	0,125 mg/L	0,125mg/L	0,063 mg/L
39	0,063 mg/L	0,031 mg/L	0,031 mg/L
40	0,25 mg/L	0,25 mg/L	0,5 mg/L
41	0,125 mg/L	0,125mg/L	0,063 mg/L
42	0,125 mg/L	0,125mg/L	0,125 mg/L

Çalışılan izolatlarda Delamanid ve Tedizolid' in MIC' leri genel olarak <0,008 mg/mL de ve Linezolid' in <0,008 ile 0,125 mg/L değerlerinde kümeleştiği tespit edilmiştir.

Tablo 4. 2. Çalışılan izolatların MIC değerlerinin sayısı



Çalışılan örneklerin antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre Delamanid' in EUCAST sınır değeri 0,06 mg/L kabul edildiğinde, 11 izolatın (% 26) dirençli olduğu tespit edildi (75). Diğer 31 izolat duyarlı bulundu. İzolatların 25'inin MIC değeri (% 59,5) <0,008 mg/mL, 2 izolat mg/mL 0,008, 1 izolat 0,032 mg/mL, 3 izolat 0,063 mg/mL, 4 izolat 0,125 mg/mL, 3 izolat 0,25 mg/mL ve 4 izolat mg/mL olarak saptandı.

LZD'nin sınır değerleri sadece MGIT sistemine göre tanımlanmış olup, 1,0 mg/L kabul edilmektedir. Belirlenen değer üstündeki tüm değerler dirençli olarak kabul edilmektedir (76). Çalışmamızda bir izolat sınır değerinde, 13 izolat (% 31) 0,125 mg/L

ve 14 izolat (% 33.3)'in $<0,008$ mg/L, 2 izolat 0,032 mg/L, 3 izolat 0,063 mg/L, 7 izolat 0,25 mg/L ve 2 izolat 0,5 mg/L tespit edilmiştir.

Tedizolid ilacına karşı belirlenmiş bir sınır değeri bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda 10 izolatın (% 23,8) 0,063 mg/mL, 19 izolat (% 45,2) $<0,008$ mg/mL, 1 izolat 0,008 mg/mL, 4 izolat 0,016 mg/mL, 3 izolat 0,032 mg/mL, 1 izolat 0,125 mg/mL, 2 izolat 0,25 mg/mL ve 2 izolat 0,5 mg/mL olarak tespit edildi.



5. TARTIŞMA ve SONUÇ

COVID-19'un küresel salgınının TB mücadelesindeki etkisi beklenenden çok daha kötü olmuştur. COVID-19 salgını, verem savaşındaki 12 yıllık ilerlemeyi ortadan kaldırmış ve TB hastalarına ulaşmayı zorlaştırmış, tedavi hizmetlerini aksatmıştır. Dünya genelinde tüberküloz tanı ve tedavisinde % 20 civarında düşüş meydana gelmesi acil önlemlere ihtiyaç olduğunu göstermektedir (77).

COVID-19 salgını, tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de tüberküloz kontrolünü olumsuz yönde etkilemiştir. Verem Savaş Dispanserleri'nde yapılan muayene, temaslı muayenesi ve bakteriyolojik inceleme sayıları yaklaşık % 40 düzeyinde azalırken, yeni kayıt edilen tüberkülozlu hasta sayısında % 26 oranında düşüş gözlenmiştir (38, 77). Ülkemizdeki 2020 yılı tüberküloz verileri henüz açıklanmadığı için, COVID 19'un tüberküloz hastalığına etkisinin boyutlarını henüz tam olarak bilinmemektedir.

Son dönemlerde TB ile mücadelede en önemli konulardan birisi yeni vakaların tespiti ve direncin tanımlanması kritik önem taşımaktadır. Bu nedenle İDT'nin sonuçlarının belirlenmesinde hızlı ve güvenilir sonuç veren test yöntemleri üzerinde çalışmalar devam etmektedir. REMA yöntemi, konvansiyonel yöntemlere alternatif olarak son yıllarda kullanıma girmiş kolorimetrik bir testtir. DSÖ, 2008 yılından günümüze kadar dünyadaki referans laboratuvarlarında kullanılan ve hızlı, güvenilir, ucuz ve kolay uygulanabilen bir yöntem olan REMA testini, anti-TB İDT için güvenilir bulunduğunu bildirmiştir (78). Bu doğrultuda Çoban ve ark yapmış olduğu çalışmada REMA testinin tanısal doğruluğu ve performansı değerlendirmiştir. Çalışmaya 4 ülke, 14 merkez katılmış ve bu merkezlerin 13'ü mikrotitre yöntemiyle, biri de tüp yöntemi ile çalışılmıştır. REMA testinin özgünlüğü %80-100, duyarlılığı %94-100 arasında bulunmuştur. Dirençli INH izolatların % 95 ve üstü güven aralığında olduğu bildirilmiştir. Aynı anda R-RIF ve R-INH için tespit duyarlılığı %71-100, özgüllüğü %93,3-100 olarak tespit edilmiştir (79). Sonuçlar MGIT 960 ile karşılaştırıldığında REMA testinin umut verici olduğu tespit edilmiştir. Brezilyadaki TB Referans Merkezi Prof. Hélio Fraga laboratuvarı 2010 yılında tıbbi talepler üzerine ÇİD-TB olgularının İDT'leri için REMA testini yapmıştır. Bu yöntemde ikinci seçenek İDT'lerin tekrarlana bilirliğinin düşük olması ve biyogüvenlik riski oluşturması nedeniyle kullanımına son

verilmiştir. Gallo ve ark 2018 yılında 125 ÇİD klinik izolat üzerinde yaptıkları çalışmada ikinci seçenek ilaçların uyumuna bakılmıştır. Çalışma sonucunda REMA'nın Bactec MGIT 960 ile uyumu; kapreomisin'de %92,7, amikasin'de %99,3, kanamisin'de %97,4, oflaksasin'de %83,4 olarak bulunmuştur. Tüm tekrarlamalar sonucunda REMA testinin uyumu %82,8 olduğu saptanmıştır (73). Çalışmamızda testin doğruluğu için randomize seçtiğimiz 14 izolatın REMA testinin uyumu %100 olarak tespit edilmiştir. Benzer bir çalışma Martin ve ark 150 klinik izolat üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada oran orantı yöntemi ile REMA testi ile yapılan ÇİD-TB hastalarının ikinci seçenek İDT sonuçlarının MIC değerleri arasında uyumlu bir korelasyon olduğunu göstermiştir (80).

ÇİD-TB'nin tüm dünyada giderek yaygınlaşması, TB ile mücadele programında yeni İDT yöntemlerine ihtiyacı arttırmış ve bu alanda yeni ilaç arayışlarına gidilmiştir. Yeni ilaç adayları ve test yöntemleri ile ilgili uluslararası bilimsel makalelerin 2006'dan günümüze kadar gün geçtikçe yoğunlaştığı görülmektedir (76). Delamanid, linezolid ve tedizolid gibi ikinci seçenek ilaçlar, TB tedavi protokollerine girmeye başlanmıştır. Çalışmamızda 42 ÇİD izolatının delamanid, linezolid ve tedizolid MIC değerleri REMA yöntemi ile incelenmiştir.

Delamanid Rv3547 enzimi tarafından aktive edilen bir ön ilaç olup; *ddn* (Rv3547), *fgd1* (Rv0407), *fbiA* (Rv3261), *fbiB* (Rv3262), ve *fbiC* (Rv1173) gen bölgelerine sahiptir. İlacın MIC verileri CLSI, FDA ve DSÖ tarafından yayınlamıştır. EUCAST 7H10 ve 7H11 agardaki MIC verilerini 0,06 mg/mL; Otsuka 7H10 ve 7H11 agardaki ECOFF MIC değerlerini 0,05 mg/mL ve 0,2 mg/L olarak belirlemişlerdir (76). Çalışmamız sonucunda DLM değerlerine baktığımızda 31 izolatımızın MIC değerlerini $\leq 0,063$ mg/mL, 25 izolatın ise $\leq 0,008$ mg/mL'den küçük olduğu ve 11 izolatımızın da ise dirençli olduğunu görmekteyiz. Dört izolatın MIC değeri 0,5 mg/mL, üç izolatın 0,25 mg/mL ve dört izolatın da 0,125 mg/mL olarak tespit ettik. DLM'nin klinikte kullanılmaya başlanmasından günümüze kadar sınırlı sayıda uluslararası çalışma bulunmaktadır. 2006 yılında Liu ve ark tarafından 67 MTB izolatı ile yapılan çalışmada, duyarlı ve dirençli MTB izolatlarının MIC değerlerini 0,006-0,024 mg/mL arasında bulunmuştur. Aynı çalışmada MTB referans suşları benzer bir potens göstermiştir (61). Çalışmamızdaki 42 izolatın MIC değerlerinin aralığını $< 0,008$ - 0,5 mg/mL arasında tespit edilmiştir.

Stinson ve ark.'nın 2016 yılında yaptıkları bir çalışmada, 460 klinik izolatın MIC değerleri agar oran yöntemi kullanılarak tespit etmiştir. İzolatların 316'sı Güney Afrika, 76'sı Japonya ve 68'i çeşitli ülkelerden toplanmıştır. Çalışma da 2 izolat dışında MIC aralığı 0,001-0,05 µg/mL arasında bulunmuş olup, MIC₅₀ 0,004 µg/mL ve MIC₉₀ 0,012 µg/mL olarak belirlenmiştir. Tek başına DLM' nin MIC oranı ise ECOFF değerleri 0,05 µg/mL olarak tespit edilmiştir (81). Aynı yıl Keller ve ark. ÇİD-TB tanısı almış 12 klinik izolatı Bactec MGIT 960 sıvı kültür sisteminde araştırmış, MIC₉₀'nı 0,006-0,05 mg/L olarak saptanmışlardır. Tüm izolatların değeri 0,0016-0,08 aralığında bulunmuştur. Aynı çalışmada H37Rv suşunun kritik konsantrasyonu 0,04 mg/L olarak belirlenmiştir (55). Çalışmamızda MIC dağılımları genel olarak ≤0,5 mg/mL bulunmuş. İzolatların genel olarak MIC konsantrasyonunu ≤0,008 mg/mL değerlerinde yoğunlaştığı %59,5 (25 izolat) belirlenmiştir. Diğer izolatların MIC değer ve oranlara baktığımızda 0,008 mg/mL' de %0,5 (2 izolat), 0,063-0,5 mg/mL' de %0,7 (3 izolat), 0,25 mg/mL'de %1 (4 izolat), bir izolatta 0,032 mg/mL konsantrasyonlar bulunmuştur.

Schena ve ark.'nın 2016 yılında yaptıkları çalışmalarında INH ve RIF direnç profilini belirlenmiş, 19 ÇİD izolatın, Bactec MGIT 960 ile REMA testinin MIC verileri karşılaştırılmıştır. Çalışmada MIC değerleri 0,02- 0,006 mg/mL arasında tespit edilmiştir. Bir izolatın MIC >0,02 mg/L olduğu tespit edilerek dirençli olarak kabul edilmiştir. Bu izolatların gen profili incelendiğinde, dirençten sorumlu gen bölgesinin *ddn* olduğu belirlenmiştir (58). Çalışmamızdaki suşların gen profiline bakılmamıştır. Chamdramohan ve ark. 2019 yılında H37Rv, R-INH, R-RIF ve ÇİD-MTB izolatlarındaki DLM'in MIC değerlerini REMA testinde 0,06-0,25 mg/mL arasında tespit etmiştir. Aynı çalışmada tüm ilaçlara dirençli bir izolatın MIC değeri 0,125 mg/mL olarak bulunmuş ve DLM' nin diğer mevcut birinci basamak anti-TB ajanlar arasında çapraz direnç tespit edilmemiştir (82). Son zamanlarda ÇİD-TB/ YİD-TB izolatların MIC verilerine ilişkin uluslararası çalışmaların sonuçlarına bakıldığında, klinik izolatların MIC'leri 0,001-0,06 mg/mL aralığında olduğu ve çan şeklinde dağılım gösterdiği belirlenmiştir (61).

Linezolid Gram (+) bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan bir oksazolidinon türü antibiyotiktir. LZD, in-vitro ve hayvan çalışmalarında ilaca dirençli MTB'ye karşı iyi bir etkinlik göstermesi nedeni ile ÇİD-TB tedavisinde kullanılmaya

başlanmış olup, Faz 3 klinik çalışmalarda tedavide yer almaya başlamıştır. İlaça maruz kalmamış TB tedavisinde düşük konsantrasyonda bile %95'ini inhibe ettiği gözlenmiştir. LZD tek başına veya diğer ilaçlarla kombine halde MTB'e karşı in vitro aktivitesi tam olarak aydınlatılmamıştır. Özellikle dirençli TB hastaların tedavisinde LZD'in kullanılmaya başlaması umut verici sonuçlar vermiştir. DSÖ ve EUCAST, LZD'in MGIT sistemine göre konsantrasyonunu 1,0 mg/L olarak belirlemiştir. Bu alanda çalışmalar çok kısıtlı olduğundan dolayı tam bir standardizasyonu sağlanamamıştır. Günümüze kadar yapılan uluslararası çalışmalar incelendiğinde bu oranın 0,06-4 mg/L aralığında olduğunu görülmektedir (76). Çalışmamızda incelediğimiz 42 izolatın bir tanesinde MIC değeri $\geq 1,0$ mg/L tespit edildi. Maltempe ve ark. H37Rv, 14 duyarlı, 9 R-INH, 14 ÇİD klinik izolat olmak üzere 38 örnek dahil edilmiştir. Duyarlı ve dirençli suşların MIC aralığı sırası ile 0,125-0,5 mg/L – 0,125-2,5 mg/L arasında tespit edilmiştir (83). Lopez ve ark.'nın 2018 yılında Belçika'da yapmış olduğu çalışmada, LZD tedavisi almamış; 161'i duyarlı, 29'u tek ilaca dirençli, 18'i ÇİD-TB, 40'ı YİD-TB 248 klinik izolatı dahil edilmiştir. Bu izolatların REMA yöntemine göre MIC değerleri araştırılmıştır. Duyarlı izolatların MIC aralığı 0,062-0,5 mg/L, dirençli izolatların MIC aralığı 0,031-4 mg/L aralığında tespit edilmiştir (56). Çalışmamızda incelenen 42 izolatın bir tanesinde MIC değeri $\geq 1,0$ mg/L tespit edildi. Geri kalan izolatlarda bu değerler; 2 izolatta 0,5 mg/L, 7 izolatta 0,25 mg/L, 13 izolatta 0,125 mg/L, 3 izolatta 0,063 mg/L, 2 izolatta 0,032 mg/L ve 14 izolatta $\leq 0,008$ mg/L olarak tespit edildi. Referans değerlere bakıldığında bir suşun dirençli olduğu belirlendi. Dirençli tespit edilen izolatın, DLM' i de dirençli olduğu belirlendi. Aynı klinik örnek tedizolid' in de yüksek MIC değerinde olduğu gözlemlendi. Yang ve ark. 2018 yılında 420 klinik izolatın DLM ve LZD'nin MIC düzeyleri mikrodilüsyon yöntemine göre değerlendirmiştir. İzolatların 171'si ÇİD, 110'u YİD ve 139'u Pre-YİD' dir. 379 izolatın EUCAST sınır değerlerine göre DLM' in duyarlı olduğu tespit edilmiş ve MIC aralığı 0,002-0,016 mg/L arasında bulunmuştur. Diğer 41 dirençli suşun mutasyon gen bölgeleri belirlenmiş olup, bunların 15'i ÇİD, 17' si YİD, 9' u Pre-YİD izolatlarından olduğu tespit edilmiştir. LND' in sınır değeri 1 mg/L kabul edilmiş ve izolatların MIC aralığı 0,25-0,5 mg/L olarak belirlenmiş, diğer örneklerin MIC ≥ 1 mg/L olarak bulunmuş ve genetik yöntemler ile direnç bölgeleri test edilmiştir. Çalışmadaki izolatların 37'sinde kontaminasyon olduğu için çalışmaya dahil edilmemiştir (84). Çalışmamızdaki izolatlarda kontaminasyon tespit edilmedi. Zong ve ark. altın standart yöntemler ile tanımlanmış 120 ÇİD ve 120 YİD klinik izolatın LZD MIC aralıklarını

mikrodilüsyon yöntemi ile çalışmış, MIC₉₀ aralığı 0,25-0,5 mg/L olarak belirlemişlerdir. Aynı çalışmada LZD'e dirençli olduğu düşünülen suşların MIC_≥ 4 mg/L olarak bulunmuş ve yüksek duyarlılık tespit edilen suşların, gen bölgeleri tespit edilmiştir (72). Schechter ve ark. 2010 yılında Kaliforniya Halk Sağlığı Tüberküloz servisinde yapmış olduğu çalışma LZD klinik verilerini açıklamışlar, daha önceden LZD ile tedavi edilen 73 ÇİD-TB olgusunun 30'unun 3,5 yıl boyunca takip edildiğini ve hiçbir hastada nüks'ün gözlenmediğini belirtmişlerdir. Çalışmada klinik suşların moleküler yöntemlerle *KatG* ve *rpoB* gen bölgesi tespit edilmiştir. Agar proporsiyon yönteminde MIC değeri 1 mg/L olarak bulunmuştur (85). Çalışmamızdaki izolatların gen bölgesine bakılmamıştır. Pakistan, TB açısından yüksek yükü olan ülkeler arasında gelmektedir. Ahmed ve ark. 2013 yılında 102 (59 YİD, 35 tedavi almış, 7 tedavi almamış ÇİD-TB) izolatını Bactec MGIT 960 ve agar proporsiyon yöntemi ile MIC değerlerini değerlendirmiştir. LZD'nin ECOFF değeri 1mg/L olarak 7H10'da tanımlanmıştır. Çalışma sonucunda 6 örnek (%5,9) dirençli kabul edilmiş ve MIC_≥1 mg/L bulunmuştur. MIC değeri 1 izolatta 2 mg/L, 5 izolatta 4 mg/L olarak yüksek düzeyde tespit edilmiştir. Diğer 96 örneğin (%94,1) MIC değerleri 0,5mg/L olarak kaydedilmiştir (86). Çalışmamızdaki bir izolatta MIC_≥1 mg/L bulunmuştur.

Santoz ve ark. 2018 yılında yaptıkları çalışmada H37Rv, 6 izolat ÇİD, 3 izolat R-İNH ve bir izolatta R-STM dirençli klinik izolatu mikrodilüsyon yöntemi ile çalışılmıştır. Aynı zamanda suşların spoligotyping yöntemine göre direnç profilleri belirlenmiştir. Çalışma da kritik konsantrasyon 0,5 mg/L olarak belirlenmiştir. Tüm klinik izolatların MIC_≤0,25 mg/L olarak bulunmuştur (87). Çalışma verileri çalışmamızla değerlendirdiğimizde benzer özellik göstermiştir. Zhao ve ark 2016 yılında ikinci seçenek antibiyotikler ile LZD'nin kullanımı sonucunda MIC değerlerine bakmışlar, çalışmaya H37Rv ve 3 ÇİD izolatı dahil etmişlerdir. Çalışma rezasurinin ana maddesi olan Alamar Mavisi Blue (MABA) kullanılarak mikrodilüsyon olarak çalışmıştır. Dört klinik izolatın MIC aralığı 0,25-1 mg/L ve MIC₉₀ ' nı 0,5 mg/L olarak bulmuştur (88).

Türkiyede LZD'nin MIC değerlerine ilişkin ilk çalışma Ermertcan ve ark. tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada 33 ÇİD-MTB ve 34 duyarlı MTB izolatını agar proporsiyon yöntemine göre değerlendirilmiştir. Bu çalışma sonucunda MIC₅₀ 0,06-1 mg/L MIC₉₀ 0,5 mg/L olarak bulunmuştur (89). Çalışmamız ülkemiz LZD değerinin belirlendiği ikinci çalışma olup, LZD'nin MIC değer ve sayılarına baktığımızda 14 izolatta < 0,008

mg/L (% 0,33), 2 izolatta 0,032 mg/L (% 0,05), 3 izolatta 0,063 mg/L (% 0,07), 13 izolatta 0,125 mg/L (% 31), 7 izolatta 0,25 mg/L (% 0,17), 2 izolatta 0,5 mg/L (% 0,05) ve 1 izolatta 1 mg/L (% 0,02) olarak tespit edilmiştir.

Tedizolid ilacı, THP-1 makrofajına karşı test edildiğinde, rifapin veya moksifloksasin ile kombine kullanımda basillere karşı hücre içinde mikobakterisidal aktivite göstermiştir. Ancak çok kısıtlı çalışmaların bulunması, MIC aralıklarının tespiti ve tedavi rejimlerinin belirlenmemesi gibi durumlardan ötürü bu alanda daha fazla çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu alanda ki tek çalışma 2019 yılında Ruiz ve ark. 2019 yılında Cordoba Tıp Fakültesi, Mycobacteria Referans Merkezi'nden seçilen 25 ÇİD-MTB, 59 tek ilaca dirençli ve 36 duyarlı suş olmak üzere toplam 120 izolat ile yapmışlardır. Bactec 960 MGIT sisteminde duyarlı ve dirençli suşların MIC₅₀ ve MIC₉₀ değerleri sırası ile 0,25-0,5 mg/L olarak tespit edilmiştir. Aynı zamanda tüm suşların 0,5 mg/L konsantrasyonunda inhibe edildiği görülmüştür (90). Bizim çalışmamız bu konuda yapılan Türkiye' de ilk, dünya da ikinci araştırma niteliğindedir. Çalışmamıza baktığımızda MIC değerleri ve sayıları; 19 izolat < 0,008 mg/mL, 1 izolat 0,08 mg/mL, 4 izolat 0,016 mg/mL, 3 izolat 0,032 mg/mL, 10 izolat 0,63 mg/mL, 1 izolat 0,125 mg/mL, 2 izolat 0,5 mg/mL ve 1 izolat 0,5 mg/mL olarak bulunmuştur. Tespit edilen 0,5 mg/L iki izolattın DEL ve LZD duyarlılığı sırası ile 0,5 mg/mL ve 0,5 mg/L olduğunu tespit edilmiştir. Bir izolatta tespit edilen 0,25 mg/L izolattın DEL ve LZD duyarlılığı sırası ile 0,25 mg/mL – 0,125 mg/L olarak tespit edilmiştir. MIC değeri 0,25 mg/L olan izolattın DLM duyarlılığı 0,5 mg/mL belirlendi. Kalan diğer izolatlar diğer ilaçlara karşı <0,08-0,25 mg/mL farklı duyarlılıklar gösterdi. Aynı zamanda Tedizolid'ten yüksek duyarlılık belirlediğimiz bütün izolatlarda, yüksek LZD duyarlılığı tespit ettik.

Sonuç olarak; günümüzde MTB tanısında ve duyarlılık saptanmasında birçok tanı ve duyarlılık yöntemleri kullanılmaktadır. Bu İDT yöntemleri farklı avantajlara ve dezavantajlara sahiptir. Literatürde birinci ve ikinci seçenek anti-TB İDT sonuçlarının REMA testinin duyarlılığını belirlemede uyumlu olduğu belirtilmektedir. REMA testinin düşük gelir düzeyindeki ülkelerdeki yaygınlaşmasını sağlamak, hızlı, pahalı tanısal sistemlere duyulan ihtiyacı azaltacaktır. Çalışmamızda dirençli suşlarda birinci ve ikinci seçenek anti-TB ilaç duyarlılığının belirlenmesinde bu yöntemin hızlı ve pratik bir test olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır



6. KAYNAKLAR

1. Barış Yİ. Dünyada Tüberküloz'un Tarihi. Konuralp Tıp Dergisi. 2010;3(2):1-4.
2. Organization WH. The global plan to stop TB, 2006-2015. World Health Organization; 2006. Report No.: 9241593997.
3. Glaziou P, Sismanidis C, Floyd K, Raviglione M. Global epidemiology of tuberculosis. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2015;5(2):017798.
4. Esen N, Gündüz AT. Dokuz Eylül Üniversitesi'nde İzole Edilen *Mycobacterium tuberculosis* İzolatlarında İlaç Direnci (2000-2002). Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2003;33(4):337-42.
5. Palomino JC, Leao SC, Ritacco V. Tuberculosis 2007; from basic science to patient care. 2007.
6. Kayalı R, Çöplü N, Ceyhan İ, Saygan M, Esen B. Çok ilaca dirençli (ÇİD) *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının minör ilaçlara direncinin saptanması. 5. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu İzmir. 2004;226.
7. Baylan O. Çok İlaç Dirençli Tüberkülozdan Sonra Yaygın İlaç Dirençli ve Tüm İlaçlara Dirençli Tüberküloz Formları: Eski Hastalığın Yeni Yüzleri. Mikrobiyol Bul. 2011;45:181-95.
8. Dormandy T. A history of Tuberculosis. The Hambledon Pres London and Rio Grande. 1999.
9. Dubos RJ, Dubos J. The white plague: tuberculosis, man, and society: Rutgers University Press; 1987.
10. Sakula A. BCG: Who were Calmette and Guerin? Thorax. 1983;38(11):806.

11. Davidson PT, Le HQ. Drug treatment of tuberculosis—1992. *Drugs*. 1992;43(5):651-73.
12. Bloom BR, Murray CJ. Tuberculosis: commentary on a reemergent killer. *Science*. 1992;257(5073):1055-64.
13. Affolabi D, Sanoussi N, Odoun M, Martin A, Koukpedji L, Palomino LC, Kestens L, Anagonou S, Portaels F. Rapid detection of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Cotonou (Benin) using two low-cost colorimetric methods: resazurin and nitrate reductase assays. *J Med Microbiol* 2008; 57(Pt 8): 1024-7.
14. Control CfD, Prevention. Emergence of *Mycobacterium tuberculosis* with extensive resistance to second-line drugs--worldwide, 2000-2004. *MMWR Morbidity and mortality weekly report*. 2006;55(11):301.
15. Barnes PF, Cave MD. Molecular epidemiology of tuberculosis. *New England Journal of Medicine*. 2003;349(12):1149-56.
16. Çakır S. Tüberküloz plörezi de serum ve plevral sıvı örneklerinde early secreted antigenic target-6 (ESAT-6) ve culture filtrate protein-10 (CFP-10) antijenlerine spesifik T-lenfositleri analizinin tanısal değeri. 2009.
17. Dormandy T. *A History of Tuberculosis: The White Death*. London: Hambledon Press, 1999: 3-12
18. Bilgehan H, Bilgehan H. *Klinik mikrobiyolojik tanı: Fakülteler Kitapevi, Barış yayınları*; 2009.
19. Saral ÖB, Sucu N, Boz GA, Erdem M, Köksal İ. 442 *Mycobacterium tuberculosis* suşunda BACTEC Yöntemi ile Kombine İlaç Direncinin Araştırılması. *Toraks Dergisi*. 2007;8:174-8.
20. Glickman MS, Jacobs WR. Microbial pathogenesis of *Mycobacterium tuberculosis*: dawn of a discipline. *Cell*. 2001;104(4):477-85.

21. Kurt A, Poyrazođlu G, Turgut M, Akarsu S, Kurt ANÇ, Aydın M, Kabakuş N, Yılmaz E, Aygün AD. Tüberküloz tanısı ile izlenen hastaların klinik ve laboratuvar özellikleri. Fırat Tıp Dergisi. 2006;11(1):55-7.
22. Gönüllü N. Klinik bakteriyoloji tanısında moleküler teknikler. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi.72(1):63-72.
23. Albay A. Mycobacterium: Genel özellikleri, laboratuvar tanısı ve boyama işlemleri. Klinik Mikrobiyoloji (Çeviri ed Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırın ŞT, Tanyüksel M) s.543-73.
24. Atlas E. *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının MIRU-VNTR ve ETR-VNTR yöntemiyle moleküler tiplendirmesi: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2008.
25. Gençaslan FS. Kliniğimizde Son Altı Yılda İzlenen Ekstrapulmoner Tüberküloz Olgularının Değerlendirilmesi: Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Sağlık Bakanlığı, Uzmanlık Tezi, 70 sayfa, İstanbul (Doç. Dr. Turan Aslan).
26. Barry III CE. Interpreting cell wall 'virulence factors' of *Mycobacterium tuberculosis*. Trends in microbiology. 2001;9(5):237-41.
27. Aslan R. Tüberküloz tanısında mikroskopi, kültür ve moleküler yöntemlerin karşılaştırılması/The comparison of microscopy, culture and molecular methods for diagnosis of tuberculosis. 2015.
28. Astarie-Dequeker C, Nigou J, Passemar C, Guilhot C. The role of mycobacterial lipids in host pathogenesis. Drug Discovery Today: Disease Mechanisms. 2010;7(1):33-41.
29. Neyrolles O, Guilhot C. Recent advances in deciphering the contribution of *Mycobacterium tuberculosis* lipids to pathogenesis. Tuberculosis. 2011;91(3):187-95.

30. TA W. Kinolonlar, Willke TA, Söyletir G, Doğanay M, (eds.) İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel kitabevleri, İstanbul. 2002:234-44.
31. Aziz, M. A., Wright, A., Laszlo, A., De Muynck, A., Portaels, F., Van Deun, A., Wells, C., Nunn, P., Blanc, L. & other authors (2006). Epidemiology of antituberculosis drug resistance (the Global Project on Anti-tuberculosis Drug Resistance Surveillance): an updated analysis. *Lancet* 368, 2142–2154.
32. Arend SM, van Dissel JT. Evidence of endogenous reactivation of tuberculosis after a long period of latency. *The Journal of infectious diseases*. 2002;186(6):876-7.
33. Mack U, Migliori G, Sester M, Rieder H, Ehlers S, Goletti D, Magdorf K, Hölscher C, Kampmann B, Arend SM, Detjen A, Bothamley G, Zellweger JP, Milburn H, Dizel R, Ravn P, Cobelens F, Cardona PJ, Kan B, Soloviç A, Duarte R, Cirillo DM, C. Lange. LTBI: latent tuberculosis infection or lasting immune responses to *M. tuberculosis*? A TBNET consensus statement. *European Respiratory Journal*. 2009;33(5):956-73.
34. Kaufmann SH. How can immunology contribute to the control of tuberculosis? *Nature Reviews Immunology*. 2001;1(1):20-30.
35. Altıntop Y. *Mycobacterium tuberculosis kompleks* izolatlarında çeşitli duyarlılık yöntemlerinin karşılaştırılması. Uzmanlık tezi, Kayseri. 2008.
36. Organization WH. Global tuberculosis report 2020: executive summary. 2020.
37. Orhan FK, Aktaş AE, Yiğit N. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Mycobacterium tuberculosis kompleks* İzolatlarının Birinci ve İkinci Seçenek Anti-Tüberküloz İlaçlara Karşı Duyarlılığın Sensititre MycoTB Plate Yöntemi ile Araştırılması. *FLORA*. 2018;23(1):31-8.
38. Sağlık Bakanlığı. Türkiye'de Verem Savaşı 2019 Raporu. 2020;Sağlık Bakanlığı Yayın No: 1168.

39. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases: 2-Volume Set: Elsevier Health Sciences; 2014.
40. Waters M, Tadi P. Streptomycin. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC.; 2020.
41. Mitnick CD, McGee B, Peloquin CA. Tuberculosis pharmacotherapy: strategies to optimize patient care. *Expert Opin Pharmacother.* 2009;10(3):381-401.
42. Huaman MA, Sterling TR. Treatment of Latent Tuberculosis Infection-An Update. *Clin Chest Med.* 2019;40(4):839-48.
43. O'Connor C, Brady MF. Isoniazid. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC.; 2020.
44. Campbell EA, Korzheva N, Mustaev A, Murakami K, Nair S, Goldfarb A, Darst SA. Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial rna polymerase. *Cell.* 2001;104(6):901-12.
45. Beloor Suresh A, Wadhwa R. Rifampin. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC.; 2020.
46. Lee N, Nguyen H. Ethambutol. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC.; 2020.
47. Gopal P, Sarathy JP, Yee M, Rangunathan P, Shin J, Bhushan S, Zhu J, Akopian T, Kandror O, Lim TK, Gengenbacher M, Lin Q, Rubin EJ, Grüber G, Dic T. Pyrazinamide triggers degradation of its target aspartate decarboxylase. *Nat Commun.* 2020;11(1):1661.
48. Metlay JP, Waterer GW, Long AC, Anzueto A, Brozek J, Crothers K, Cooley LA, Dean NC, Fine MJ, Flanders SA. Diagnosis and treatment of adults with community-acquired pneumonia. An official clinical practice guideline of the American

Thoracic Society and Infectious Diseases Society of America. American journal of respiratory and critical care medicine. 2019;200(7):e45-e67.

49. Shaw KJ, Barbachyn MR. The oxazolidinones: past, present, and future. Annals of the New York Academy of Sciences. 2011;1241(1):48-70.

50. Long KS, Vester B. Resistance to linezolid caused by modifications at its binding site on the ribosome. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2012;56(2):603-12.

51. Kaplan SL, Deville JG, Yogev R, Morfin MR, Wu E, Adler S, Edge P, Naberhus Stehouwer S, Bruss JB. Linezolid versus vancomycin for treatment of resistant Gram-positive infections in children. The Pediatric infectious disease journal. 2003;22(8):677-86.

52. Egle H, Trittler R, Kümmerer K, Lemmen SW. Linezolid and rifampin: Drug interaction contrary to expectations? Clinical pharmacology and therapeutics. 2005;77(5):451-3.

53. Yang JS, Kim KJ, Choi H, Lee SH. Delamanid, Bedaquiline, and Linezolid Minimum Inhibitory Concentration Distributions and Resistance-related Gene Mutations in Multidrug-resistant and Extensively Drug-resistant Tuberculosis in Korea. Annals of laboratory medicine. 2018;38(6):563-8.

54. Kisgen JJ, Mansour H, Unger NR, Childs LM. Tedizolid: a new oxazolidinone antimicrobial. American journal of health-system pharmacy. 2014;71(8):621-33.

55. Keller PM, Hömke R, Ritter C, Valsesia G, Bloemberg GV, Böttger EC. Determination of MIC distribution and epidemiological cutoff values for bedaquiline and delamanid in *Mycobacterium tuberculosis* using the MGIT 960 system equipped with TB eXiST. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2015;59(7):4352-5.

56. Lopez B, Siqueira de Oliveira R, Pinhata JMW, Chimara E, Pacheco Ascencio E, Puyén Guerra ZM, et al. Bedaquiline and linezolid MIC distributions and

epidemiological cut-off values for *Mycobacterium tuberculosis* in the Latin American region. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2018;74(2):373-9.

57. Fujiwara M, Kawasaki M, Hariguchi N, Liu Y, Matsumoto M. Mechanisms of resistance to delamanid, a drug for *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis* (Edinburgh, Scotland). 2018;108:186-94.

58. Schena E, Nedialkova L, Borroni E, Battaglia S, Cabibbe AM, Niemann S, Utpatel C, Merker M, Trovato A, Hofmann-Thiel S, Hoffmann H, Cirillo DM. Delamanid susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* using the resazurin microtitre assay and the BACTEC™ MGIT™ 960 system. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2016;71(6):1532-9.

59. Matsumoto M, Hashizume H, Tomishige T, Kawasaki M, Tsubouchi H, Sasaki H, et al. OPC-67683, a nitro-dihydro-imidazooxazole derivative with promising action against tuberculosis in vitro and in mice. *PLoS medicine*. 2006;3(11).

60. Tan Y, Su B, Zheng H, Wang Y, Pang Y. Prothionamide susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* using the resazurin microtitre assay and the BACTECMGIT 960 system. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2017;36(5):779-82.

61. Liu Y, Matsumoto M, Ishida H, Ohguro K, Yoshitake M, Gupta R, et al. Delamanid: From discovery to its use for pulmonary multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). *Tuberculosis* (Edinburgh, Scotland). 2018;111:20-30.

62. Köksal F. *Mycobacterium tuberculosis*' te direnç problemi. I. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi Kitabı.12-6.

63. BAYLAN O. Çok ilaca dirençli tüberkülozdan sonra yaygın ilaca dirençli ve tüm ilaçlara dirençli tüberküloz formları: Eski hastalığın yeni yüzleri. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 2011;45(1):181-95.

64. Isenberg HD. Essential procedures for clinical microbiology: ASM press Washington, DC; 1998.
65. Öz Y, Aslan M, Akşit F, Durmaz G, Kiraz N. *Mycobacterium tuberculosis kompleks* izolatlarının primer antitüberküloz ilaçlara duyarlılığının değerlendirilmesi. ANKEM Derg. 2012;26(1):20-4.
66. Abate G, Aseffa A, Selassie A, Goshu S, Fekade B, WoldeMeskal D & Miörner, H. (2004). Direct colorimetric assay for rapid detection of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. JClin Microbiol 42, 871–873.
67. Atalay MA, Çolakoğlu S, Delice S, Durmaz S, Koç AN, Kılıç H. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole edilen *Mycobacterium tuberculosis kompleks* Suşlarının Major Anti-tüberküloz İlaçlara Duyarlılıkları. Türk Mikrobiol Cem Derg. 2011;41(2):57-60.
68. Çalık S. Çukurova Bölgesinde Klinik Örneklerden İzole Edilen *Mycobacterium tuberculosis kompleks (MTBK)* Suşlarında Çoklu İlaç İrenic (Çid) İle Beraber İkinci Seçenek Anti-Tüberküloz İlaçlara Da Karşı Gelişen Yaygın İlaç Direncinin (Yid) Fenotipik Ve Genotipik Olarak İncelenmesi. 2014, Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 71 sayfa, Adana, (Prof. Dr. Fatih Köksal).
69. DE Qualite PDC. BBL Middlebrook 7H9 Broth with Glycerol.
70. Coban AY, Akbal AU, Uzun M, Durupinar B. Evaluation of four colourimetric susceptibility tests for the rapid detection of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2015;110:649-54.
71. Saline N. BBL™ Prepared Saline Solution. Notes.405(0707):4502-07.
72. Zong Z, Jing W, Shi J, Wen Sa, Zhang T, Huo F, et al. Comparison of In Vitro Activity and MIC Distributions between the Novel Oxazolidinone Delpazolid and Linezolid against Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* in China. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2018;62(8):e00165-18.

73. Gallo JF, Pinhata JMW, Saraceni CP, de Oliveira RS. Evaluation of the BACTEC MGIT 960 system and the resazurin microtiter assay for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* to second-line drugs. *J Microbiol Methods*. 2017;139:168-71.
74. Coban AY, Birinci A, Ekinçi B, Durupinar B. Drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* by the broth microdilution method with 7H9 broth. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2004;99(1):111-3.
75. Kahlmeter G, Giske CG, Kirn TJ, Sharp SE. Point-Counterpoint: Differences between the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing and Clinical and Laboratory Standards Institute Recommendations for Reporting Antimicrobial Susceptibility Results. *Journal of clinical microbiology*. 2019;57(9).
76. Organization WH. Technical report on critical concentrations for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis. World Health Organization; 2018.
77. Organization WH. World Health Organization (WHO) information note: tuberculosis and COVID-19. 2020.
78. Jamil NIN, Wahab W, Ali IA, Yahaya ML. Direct Resazurin Microplate Assay in Drug Susceptibility Testing of Smear-Positive Sputum Samples against *Mycobacterium tuberculosis*. *The Malaysian journal of medical sciences : MJMS*. 2018;25(6):59-66.
79. Coban AY, Deveci A, Sunter AT, Palomino JC, Martin A. Resazurin microtiter assay for isoniazid, rifampicin, ethambutol and streptomycin resistance detection in *Mycobacterium tuberculosis*: Updated meta-analysis. *International journal of mycobacteriology*. 2014;3(4):230-41.
80. Martin A, Camacho M, Portaels F, Palomino JC. Resazurin microtiter assay plate testing of *Mycobacterium tuberculosis* susceptibilities to second-line drugs: rapid, simple, and inexpensive method. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2003;47(11):3616-9.

81. Stinson K, Kurepina N, Venter A, Fujiwara M, Kawasaki M, Timm J, Shashkina E, Kreiswirth BN, Liu Y, Matsumoto M, Geiter L. MIC of Delamanid (OPC-67683) against *Mycobacterium tuberculosis* Clinical Isolates and a Proposed Critical Concentration. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2016;60(6):3316-22.
82. Chandramohan Y, Padmanaban V, Bethunaickan R, Tripathy S, Swaminathan S, Ranganathan UD. In vitro interaction profiles of the new antitubercular drugs bedaquiline and delamanid with moxifloxacin against clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *Journal of global antimicrobial resistance*. 2019;19:348-53.
83. Maltempe FG, Caleffi-Ferracioli KR, do Amaral RCR, de Oliveira Demitto F, Siqueira VLD, de Lima Scodro RB, et al. Activity of rifampicin and linezolid combination in *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis*. 2017;104:24-9.
84. Yang JS, Kim KJ, Choi H, Lee SH. Delamanid, Bedaquiline, and Linezolid Minimum Inhibitory Concentration Distributions and Resistance-related Gene Mutations in Multidrug-resistant and Extensively Drug-resistant Tuberculosis in Korea. *Annals of laboratory medicine*. 2018;38(6):563-8.
85. Schechter GF, Scott C, True L, Raftery A, Flood J, Mase S. Linezolid in the Treatment of Multidrug-Resistant Tuberculosis. *Clinical Infectious Diseases*. 2010;50(1):49-55.
86. Ahmed I, Jabeen K, Inayat R, Hasan R. Susceptibility Testing Of Extensively Drug-Resistant And Pre-Extensively Drug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* Against Levofloxacin, Linezolid, And Amoxicillin-Clavulanate. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2013;57(6):2522-5.
87. Santos NCdS, Scodro RBdL, de Almeida AL, Baldin VP, Nakamura de Vasconcelos SS, Siqueira VLD, Caleffi-Ferracioli KR, Campanerut-Sá PAZ, Cardoso RF. Combinatory activity of linezolid and levofloxacin with antituberculosis drugs in *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis*. 2018;111:41-4.

88. Zhao W, Zheng M, Wang B, Mu X, Li P, Fu L, Liu S, Guo Z. Interactions of linezolid and second-line anti-tuberculosis agents against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in vitro and in vivo. International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases. 2016;52:23-8.
89. Ermertcan S, Hosgor-Limoncu M, Erac B, Tasli H, Cavusoglu C, Bozkurt H. In vitro activity of linezolid against *Mycobacterium tuberculosis* strains isoalted from Western Turkey. Jpn J Infect Dis. 2009;62(5):384-5.
90. Ruiz P, Causse M, Vaquero M, Casal M. In Vitro Activity of Tedizolid against *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2019;63(4):01939-18.

7. ÖZGEÇMİŞ



da doğan Funda ŞAHİN üniversite hayatına Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesine 2010 yılında başlayıp 2014 yılında mezun olmuştur. Mersin Özel Yenişehir Hastanesinde çalışma hayatına başlamış olup ve 2018 yılında Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD' ında araştırma görevlisi olarak çalışma hayatına devam etmektedir. 2017 yılında Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji ABD' da başladığı yüksek lisans programına halen devam etmektedir.



8. EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onay

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Çoklu İlaça Dirençli Mycobacterium tuberculosis izolatlarında Tedizolid, Linezolid, Delamanid, Bedaquilin, Gatifloksasine Karşı İlaç Duyarlılıklarının Mikrodilüsyon Yöntemleri ile Değerlendirilmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	223

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2019/223	Tarih: 03.07.2019
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıyla katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile İlişki		Katılım *	
Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR	ADLI TIP	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Prof. Dr. Yasemin ZER	MİKROBİYOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Prof. Dr. Özlem ALTINDAĞ	FİZİK TEDAVİ ve REHABILITASYON	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Prof. Dr. Birgül ÖZÇİRPİCİ	HALK SAĞLIĞI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Prof. Dr. Muradiye NACAĞ	TIBBİ FARMAKOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Prof. Dr. İlker SEÇKİNER	ÜROLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Prof. Dr. Mehmet KESKİN	ÇOCUK ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Prof. Dr. Sinan AKBAYRAM	ÇOCUK HEMATOLOJİ ve ONKOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Prof. Dr. Ramazan BAL	FİZYOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Doç. Dr. Ümit ELBOĞA	NÜKLEER TIP	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Dr. Öğr. Üyesi Serkan GÜRGÜL	BİYOFİZİK	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Dr. Öğr. Üyesi Eda Didem YALÇIN	AĞIZ DIŞ ve CENE RADYOLOJİSİ	Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Uzm. Dr. Gönül KARATAŞ DURUSOY	GÖZ HASTALIKLARI	Gaziantep Dr. Ersin Arslan Eg. Arş. Hast.	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Emine Aybügen YILDIRIM	AVUKAT (Hukukçu)	Gaziantep Barosu	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Hasan KİCİKOĞLU	OKUL ÖNCESİ ÖĞRETMENİ	Gaziantep Anaokulu	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

*:Toplantıda Bulunma

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Çoklu İlaça Dirençli Mycobacterium tuberculosis izolatlarında Tedizolid, Linezolid, Delamanid, Bedaquilin, Gatifloksasine Karşı İlaç Duyarlılıklarının Mikrodilüsyon Yöntemleri ile Değerlendirilmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	223

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Çoklu İlaça Dirençli Mycobacterium tuberculosis izolatlarında Tedizolid, Linezolid, Delamanid, Bedaquilin, Gatifloksasine Karşı İlaç Duyarlılıklarının Mikrodilüsyon Yöntemleri ile Değerlendirilmesi	
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	223	
ETİK KURULU BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ	Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Araştırma Merkezi Binası (GAÜNDAM) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 27310 Şehitkamil/Gaziantep
	TELEFON	0342 360 12 00-Dahili 4800
	FAKS	-
	E-POSTA	etikkurul@gantep.edu.tr

BASVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Mikrobiyoloji				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi				
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI					
	DESTEKLEYİCİ					
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)					
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ					
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>			
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>			
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>			
FAZ 4		<input type="checkbox"/>				
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>				
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>				
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>				
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>				
DİĞER İSE BELİRTİNİZ :						
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>		

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarhi	Versiyon Numarası	Dili			
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama					
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>					
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>					
	İLAN	<input type="checkbox"/>					
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>					
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>					
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>					
	DİĞER	<input type="checkbox"/>					

