

# Mikobakteriyoloji Laboratuvarında İncelenen Örneklerin Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi

Gani ORHAN(\*), Yasemin ZER(\*), İclal BALCI(\*), Ayşen BAYRAM(\*), Gülhan KORKMAZ(\*)

## ÖZET

Çalışmamızda Mayıs 1998 - Mayıs 2001 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Mikobakteriyoloji Laboratuvarına tüberküloz ön tanısı ile gönderilen 2710 klinik örneğe ait sonuçlar retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Örneklerden Ehrlich Ziehl Neelsen yöntemi ile yapılan boyamada aside-dirençli bakteriler aranmış ve pozitiflik oranı % 4.76 olarak bulunmuştur. Gelen tüm örnekler homojenizasyon ve dekontaminasyon işlemi uygulandıktan sonra BACTEC 460 sisteminde, kültürleri yapılmış üreme olanların aynı yöntemle antitüberküloz antimikrobiklere duyarlılıkları incelenmiştir. İncelenen materyallerde balgam % 47.6 ile ilk sırada yer almaktadır. İncelenen 2710 materyalin 229'unda (% 8.45) Mycobacterium tuberculosis kompleksi üremiş, altı (% 0.22) hastada ise MOTT basili tespit edilmiştir. Üreme görülen örneklerin 201'ine antimikrobiyal duyarlılık testi yapılmış olup, 82 (% 40.79) suşta tekli/çoklu direnç görülmüştür. Tek ilaca dirençte (% 13.93) ile izoniyazid ilk sırada bulunmakta, onu etambutol (% 3.48), rifampisin (% 2.98) ve streptomisin % 1.99 izlemektedir. Onaltı suşta (%7.96) ikili ilaca, 19 suşta (% 9.45) üçlü ilaca, 2 suşta % 0.99 ise dört ilaca birden direnç görülmüştür. Laboratuvarımıza tüberküloz ön tanısı ile gelen hasta sayısında önceki yıllara göre artış gözlenmesine karşın, üreme ve direnç oranlarında artış gözlenmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Mycobacterium antituberculosis, tüberküloz ilaç, duyarlılık

## GİRİŞ

Mikobakterilerin sebep olduğu tüberküloz insanlık tarihinin en eski hastalıklarından birisi olmakla beraber, halen tüm dünyada ve ülkemizde önemli sağlık problemleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır (1, 2). Dünya Sağlık Örgütü tarafından tüm dünyada yaklaşık bir milyar yediyüz milyon kişinin Mycobacterium tuberculosis ile infekte olduğu, bunların 20 milyonunun aktif tüberküloz hastası olup, her yıl üç

## SUMMARY

Retrospective Evaluation of Specimens Examined in the Mycobacteriology Laboratory

In this study the medical records of 2710 specimens arrived to the mycobacteriology laboratory of Gaziantep University Medical Faculty from May 1998 through May 2001 were evaluated retrospectively. Specimens were stained by Ehrlich Ziehl Neelsen method and the incidence of acidfast bacteria was found to be 4.76 %. After decontamination and homogenisation procedures, specimens were inoculated into Bactec Media BACTEC TB 460 Antituberculous susceptibility tests of the isolated strains were performed to streptomycine, isoniazid, rifampin and ethambutol with the same method. In 229 (8.45 %) of the specimens Mycobacterium tuberculosis complex and in six (0.22 %) cases MOTT strains were isolated. Antituberculous susceptibility tests of 201 isolates showed in 82 (40.79 %) of cases resistance to one or more of the antituberculous drugs. Single drug resistance occurred mostly to isoniazid (13.93 %) which was followed by ethambutol (3.48 %), rifampicin (2.98 %) and streptomycin (1.99 %). The rate of resistance to two drugs was seen in 16 (7.96 %) cases, to three drugs in 19 (9.45 %) cases and to four drugs in 2 (0.99 %) cases. Although the total number of the specimens sending to our mycobacteriology laboratory had increased in the last years, the incidence of positive cultures and resistant strains did not change.

Key words: Mycobacterium tuberculosis, susceptibility, antituberculous drugs

milyondan fazlasının öldüğü rapor edilmektedir (3, 4). Tüberküloz olguların gelişmekte olan ülkelere daha sık rastlandığı dikkati çekmektedir (5). Yurdumuzda da Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı verilerine göre, infekte olgu sayısı yaklaşık 12 milyon (nüfusun yaklaşık % 25'i) olup, bunun her yıl % 1-3'ünün hasta olacağı düşünüldüğünde tüberkülozun, ülkemiz için de önemli bir sağlık sorunu olduğu gözlenmektedir (6).

Tüberküloz infeksiyonlarındaki yaygınlığın yanında olayın diğer korkutucu yanı, son yıllarda çoğul dirençli M. tuberculosis suşlarındaki artıştır. Bu suşla-

(\*Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep

rın en azından en önemli antikübüküloz ilaçlar olan rifampin (RİF) ve izoniyazide (İNH) dirençli olduğu gözlenmektedir (7).

Tüberküloz infeksiyonlarının tanısı, bakterinin izolasyonunu amaçlayan mikrobiyolojik incele-melere dayanmaktadır. Bu incelemeler, hasta örneğindeki bakterilerin mikroskopik olarak incelenmesi (Ehrlich Ziehl Neelsen ve/veya florokrom boyama yöntemleri) ve bakterinin üremesi için, hasta örneğinin klasik besiyerlerine ve/veya radyometrik kültür besiyerlerine (Bactec-460) ekimini kapsamaktadır (8).

Bu çalışmada amacımız, hastanemiz mikobakteriyoloji laboratuvarında incelenen örneklerde ki üreme oranlarının belirlenmesi ve izole edilen *M. tuberculosis* suşlarının birinci seçenek antitüberküloz ilaçlara duyarlılığının araştırılmasıdır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Mikoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına Mayıs 1998-Mayıs 2001 tarihleri arasında tüberküloz ön tanısı ile gönderilen örnekler retrospektif olarak incelendi. Belirtilen süre içerisinde 2710 örnek Bactec Tb 460 radyometrik kültür yöntemi ile incelenmiş olup, *M. tuberculosis kompleks* olarak tanımlanan suşların antitüberküloz ilaçlara duyarlılığının belirlenmesi için de standart Bactec yöntemi kullanılmıştır. Balgam, mide aspirasyon sıvısı, bronkoalveolar lavaj sıvısı, yara, pü örnekleri eritme ve dekontaminasyonu takiben ekilmiştir. İdrar örnekleri başlangıçta 3000xg'de 20 dakika santrifüjde çevrilmiş ve daha sonra eritme ve dekontaminasyon yapılmış, steril vücut sıvıları ise santrifüj edilerek, dekontaminasyon işlemi yapılmadan, pH'sı ayarlanarak direkt olarak Bactec 12B (zenginleştirilmiş 7H12) besiyerine ekilmiştir (8). Kan örnekleri de direkt olarak 13A şişelerine ekilmiştir. Eritme ve dekontaminasyon amacı ile örnekler % 4 NaOH ve N-asetil-L-sistein ile 15 dakika muamele edilmiş, fosfat tamponlu su eklenerek, 3000xg'de 20 dakika soğutmalı santrifüjde çevrilerek yoğunlaştırılmış, sedimentin pH'sı 6.8'e ayarlanarak 12B besiyerine ekilmiş ve preparat hazırlanmıştır. Ekim yapılacak 12B besiyerlerine ekimden önce PANTA (polimiksin B, amfoterisin B, nalidiksik asit, trimethoprim, azlosi-

lin) antibiyotik karışımı eklenerek, mikobakteriler dışındaki diğer bakterilerle kontaminasyon azaltılmaya çalışılmıştır. Bactec 460'da besiyerlerinin üreme indeksinin (GI) günlük takibi ile, GI 10'u geçtiğinde, bu besiyerleri pozitif, altı hafta süresince takip edilip GI'da hiçbir değişiklik olmayan besiyerleri negatif olarak değerlendirilmiştir (8, 9). Üreme olan besiyerlerden, preparat hazırlanarak, aside dirençli boyama uygulanmış ve aside dirençli bakteriler görüntüden sonra, M. tb . kompleksi ve MO TT basillerini ayırmak için NAP testi kullanılmıştır(8, 9). Bu şekilde tanımlanan mikobakterilerin tüberküloz ilaç duyarlılığı, üreme saptanan besiyerlerinden ayrı ayrı 6 µ/ml streptomisin (STR) 0.2 µ/ml İNH, 2 µ/ml RİF ve 7.5 µ/ml etambutol (ETB) ilave edilmiş yeni 12B besiyerlerine pasajlar yapılmıştır. Test edilen ilacın bulunduğu besiyerindeki GI değeri kontrol besiyerlerindeki GI değeri ile karşılaştırılarak, üreyen mikobakterinin ilaca duyarlılığı belirlenmiştir.

## BULGULAR

Hastanemiz Mikobakteriyoloji Laboratuvarına Mayıs 1998-Mayıs 2001 tarihleri arasında tüberküloz ön tanısı ile gönderilen 2710 klinik örnek incelendi. İncelenen örneklerin dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

İncelenen 2710 örneğin 1768'i (%65.23) erkek; 942'si (%34.77) kadın hastaya aitti.

İncelenen örneklerin 1466'sı (% 54.10) göğüs hastalıkları servisi, 239'u (% 8.81) pediatri, 220'si (% 8.12) göğüs cerrahisi, 115'i (% 4.24) dahiliye, 105'i (% 3.87) infeksiyon hastalıkları, 52'si (% 1.94) nöroloji, 30'u (% 1.10) ortopedi, 27'si (% 0.99) genel

Tablo 1. İncelenen Örneklerin Dağılımı

Örnek	Sayı (%)
Balgam	1290 (% 47.60)
BAL <sup>1</sup>	379 (% 13.98)
BOS <sup>2</sup>	245 (% 9.04)
Plevra	420 (% 15.49)
Periton	19 (% 0.70)
AMS <sup>3</sup>	111 (% 4.09)
İdrar	83 (% 3.06)
Pü	49 (% 1.80)
Kan	3 (% 0.11)
Diğer	111 (% 4.09)
<b>Toplam</b>	<b>2710 (% 100.0)</b>

cerrahi, 65'i (% 2.40) acil servis ve 115'i (% 4.24) farklı hastanelerden kliniğimize gönderilen örneklerdi.

Ekim öncesi hazırlanan preparatların 129'u (% 4.76) aside dirençli bakteri yönünden pozitif olarak bulundu. İncelenen örneklerin 229'unda (% 8.45) M-tb kompleksi; 6'sında (% 0.22) MOTT basili üredi. Balgam örneklerinin 176'sında (% 13.64), BAL örneklerinin 13'ünde (% 3.43), pü örneklerinin 10'nunda (% 20.40), BOS örneklerinin 8'inde (% 3.26), plevra örneklerinin 8'inde (% 1.90), AMS örneklerinin 4'ünde (% 3.60), idrar örneklerinin 2'sinde (% 2.40) üreme gözlemlendi. Kan örneklerinde üreme saptanmamış, bununla birlikte, diğer örnekler grubunda topladığımız örnekler kemik iliğinden 1, akciğer ve lenf bezi biyopsisinden 5, eklem sıvısı örneklerinden 2 izole edilen suşların kompleks izole edilmiştir. İzole edilen suşların 201'ine antitüberküloz duyarlılık yapılmıştır. Suşların 119'unun (% 59.20) denenilen dört ilaca da duyarlı olduğu, 82 suşun (% 40.79) ise farklı direnç gösterdiği gözlenmiştir. Dirençli bulunan bu suşların direnç durumları Tablo 2'de gösterilmiştir.

## TARTIŞMA

Tüberküloz 1882 yılında etkenin bulunmasına ve zaman içerisinde aşısının, tedavisinin geliştirilebilmesi olunmasına karşın, özellikle yoksul ülkelerde önem-

Tablo 2. Dirençli suşların dağılımı

ANTİBİYOTİK	Dirençli suş sayısı (%)
İNH	28 (% 13.93)
ETB	7 (% 3.48)
RİF	6 (% 2.98)
STR	4 (% 1.99)
İNH-RİF	8 (% 3.98)
İNH-ETB	4 (% 1.99)
İNH-STR	2 (% 0.99)
RİF-ETB	2 (% 0.99)
İNH-RİF-STR	10 (% 4.97)
İNH-ETB-RİF	6 (% 2.98)
İNH-ETB-STR	3 (% 1.49)
İNH-ETB-RİF-STR	2 (% 0.99)
Toplam	82 (% 40.79)

li bir sağlık sorunu olarak varlığını sürdürmektedir (10). Özellikle 1985 yılından bu yana tüberküloz insidansında ve çoklu dirençli *M. tuberculosis*'in ne-

den olduğu salgınlarda beklenmedik artışlar olması bakterinin hızlı tanı ve ilaç duyarlılığının belirlenmesi gereğini de doğurmuştur (2, 11). Tanı amacı ile kullanılan çeşitli yöntemlerden biri olan Bactec 460 sistemi ile ortalama 7-15 gün içerisinde izolasyon mümkün olup, klasik yöntemlere göre bu, 2-3 haftalık zaman kazancı anlamına gelmektedir (12).

Kliniğimizde yapılan benzer bir çalışmada Balcı ve ark. (13) yaklaşık 4 yıllık bir süre içerisinde, 1422 materyel incelemiş ve 199'unda (% 13.99) üreme bulmuşlardır. Bizim çalışma grubumuzda ise üç yıllık periyotta 2710 örnek incelenmiş olup, 229'unda (% 8.45) M.Tb kompleks izole edilmiştir. Mikoloji laboratuvarımıza tüberküloz ön tanısı ile gönderilen örnek sayısında önemli oranda artış olmasına karşın, üreme oranlarında önemli bir fark olmadığı, hatta bu oranın bir miktar düştüğü gözlenmektedir. Hastalara ait klinik verilerimizin olmamasından dolayı bu düşüşü açıklayamıyoruz. Ancak hastaların hastalığın hangi aşamasında, hangi diğer hastalıklar ekarte edildikten sonra mikobakteriyolojik inceleme amacı ile laboratuvara gönderildiğinin de irdelenmesi gerektiğini düşünüyoruz. Laboratuvarlar rutin hizmet veren birimler olmasına karşın, yapılan işlemlerin ekonomik boyutu da göz önüne alınarak, istenen tetkiklerin hastaların klinik ve diğer verileri de göz önüne alınarak yapılmasının iş ve mali yükü azaltabileceğini düşünmekteyiz.

Ülkemizde yapılan benzer çalışmalarda *M. tuberculosis* izolasyon oranları % 4.85-13.8 olarak bildirilmekte olup, bizim bulduğumuz % 8.45'lik oran bu aralık içerisinde yer almıştır (14-16).

Tüberküloz tedavisinde kullanılan ilaç sayısının azlığı yanında bu ilaçlara karşı bakterilerin direnç kazanmış olması da önemli bir sorundur (17). Özellikle çoklu dirençli suşların varlığı veya bu suşların en azından İNH-RİF direncine sahip olması sorunun boyutunu artırmaktadır (7, 18). Bu direnç paternine sahip suşlar gelişmiş ülkelerde HIV'e eşlik etse de, yetersiz tedavi programlarının uygulandığı gelişmekte olan ülkelere de sıklıkla rastlanmaktadır (17). Çalışma grubumuzdaki hastaların antitüberküloz ilaçlarla duyarlılık durumları irdelendiğinde, 201 suştan 82'sinde (% 40.79) farklı boyutlarda direnç rastlanmıştır. Bulunan bu oranın birincil veya

ikincil direnç olması açısından değerlendirilme yapılmamıştır. Balcı ve ark.'nın (13) yaptığı çalışmada bu% 45.2 olarak bulunmuş olup, direnç gelişimi açısından hastanemizde anlamlı bir fark olmadığı gözlenmektedir. Türkiye'de birincil direnç % 14-27, ikincil direnç % 37-66 olarak rapor edilmektedir (19). Amerika Birleşik Devletleri'nde bu oran sırası ile %13, % 26.2 olarak bildirilmektedir (20). Bizim oranlarımız Türkiye rakamlarına benzer rakamlardır. Özellikle Türkiye gibi tüberküloz ilaçlarının kolaylıkla bulunabildiği, satışının serbest olduğu, orta gelirli gelişmekte olan ülkelerde direnç oranlarının yüksek olduğu bildirilmektedir (17). Tek ilaca dirençte İNH direnci % 13.93, RİF % 2.98, ETB % 3.48, STR % 1.99 olarak bulunmuştur. Çeşitli yayınlarda aynı yöntemle yapılan duyarlılık testleri sonucunda bu oranlar sırasıyla % 6-19, % 2-14, % 2-3, % 1-16 olarak bildirilmektedir (14-16, 22). Bizim çalışmamızda da İNH direncinin tek ilaca direnci ile ilk sırayı aldığı gözlenmektedir. Bu da tedavi ve profilaksi amacı ile en sık kullanılan ilaç olmasına bağlanabilir. Çoklu dirençli tüberküloz suşlarında özellikle tedavinin iki temel ilacı olan İNH-RİF direncinin varlığı söz konusudur. Bu suşlarda belirtilen ilaçlara ek olarak diğer antitüberküloz ilaçlara direnç olabilir veya olmayabilir (21). Çalışma grubumuzda 8 hastada salt İNH-RİF direnci bulunmuştur. Bununla birlikte İNH+RİF'e ek olarak diğer ilaçlardan bir veya ikisine de dirençli olanlar gözönüne alınırsa toplam olarak 26 hastada (% 12.93) çoklu dirençten bahsedilebilir. Türkiye'de bu oran birincil vakalarda % 3.0 ikincil vakalarda % 21.5 olarak bildirilmiştir (6). Amerika'da sırasıyla % 7.5, % 30.1, Nepal'de % 2.5, % 48.0'dır (6). Tüberkülozun günümüzdeki görünümü infekte vakalarda çoklu dirençli suşlardaki artışla karakterize olmasıdır. Bu hastalarda kısıtlı tedaviler uygulanabilmesi, tedavi süresinin uzun olmasından (en az iki yıl) dolayı oluşan ilaca bağlı komplikasyonlar sebebi ile mortalite yüksektir (21). Dirençli suşların ortaya çıkmasının en önemli nedeni hastaların tedaviye uyumsuzluğu ve yanlış uygulanan tedavi rejimleridir (17). Hastanın tedaviye uyumsuzluğu sadece orta ve geri kalmış ülkeler için değil, ileri ülkeler için de sorun olarak almakta çeşitli şekillerde hastalar takip edilerek uyumları sağlanmaya çalışılmaktadır (17). Diğer ve laboratuvar açısından daha önemli olan uygun tedavinin seçilmesinin sağlanma-

sıdır. Bu nedenle laboratuvara uygun zamanda uygun örnek gönderilmesi, duyarlılık sonuçlarına uygun tedavi protokollerinin oluşturulması hasta ve dirençli suşlar ile infekte olabilecek sağlıklı, popülasyon için belirli ölçüde faydalı olacaktır kanısındayız.

#### KAYNAKLAR

1. **Uzun M, Kasımoğlu Ö:** Tüberküloz tanısında Ehrlich-Ziehl-Neelsen ve Fluorokrom boyama yöntemlerinin ve Bactec Löwenstein-Jensen kültür yöntemlerinin sonuçlarının değerlendirilmesi, *Klinik Derg* 10:36 (1997).
2. **Christie JD, Callihan DR:** The laboratory diagnosis of mycobacterial diseases, *Clin Lab Med* 15: 279 (1995).
3. **Chretien J:** Tuberculosis today, *Eur Respir J* 8:617 (1995).
4. **Collins FM:** Tuberculosis: The return of an old enemy, *Crit Rev Microbiol* 19:1 (1993).
5. **Weiss R:** On the track killer tb, *Science* 225:148 (1992).
6. **Anğ Ö, Erturan Z, Uzun M:** Dünyada ve Türkiye'de tüberküloz, *İnfeksiyon Derg* 11:1 (1997).
7. **Gerowitt SH:** On the development of mycobacterial infections, *Zbl Bakt* 283: 5 (1995).
8. **Berlin OGW:** Mycobacteria, "Baron EJ, Finegold SM (ed): *Diagnostic Microbiology*", Mosby Company, Missouri p.597 (1990).
9. **Siddiqi SH:** Bactec TB system, product and procedure manual. Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Maryland (1989).
10. **Haas DW, Des Prez RM.** Mycobacterium tuberculosis. In: Mandell GL, Bennett J, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 4th ed. New York, Churchill Livingstone Co, 2213 (1995).
11. **Barnes PF, Barrows SA:** Tuberculosis in the 1990s, *Ann Intern Med* 119: 400 (1993).
12. **Kasımoğlu Ö:** Tüberküloz tanısında yeni gelişmeler. Anğ Ö, Uzun M, eds. *Tüberküloz tanı, direnç ve tedavi*, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, İstanbul, 11 (1996).
13. **Balcı İ, Bayram A, Filiz A:** Mycobacterium tuberculosis'de birinci seçenek ilaçlara direnç, *İnfeksiyon Derg* 13:521 (1999).
14. **Yaman A, Dündar İH, Aksungur P, Apan TZ:** Mycobacterium tuberculosis'in izolasyonunda Bactec sistemi ile Löwenstein-Jensen'in kıyaslanması ve ilaç hassasiyetlerinin Bactec ile değerlendirilmesi, *Mikrobiyol Bül* 28:189 (1994).
15. **Uzun M:** Tüberküloz tanısında Ehrlich Ziehl-Neelsen, fluorokrom boyama yöntemleri ile Bactec ve Löwenstein-Jensen kültür yöntemlerinin sonuçlarının değerlendirilmesi, *İst Üniv Sağ Bil Enst Mik Anabilim Dalı, Doktora Tezi* (1994).
16. **Yüce A, Abedi M, Okuyan M:** Eylül 1986- Nisan 1989 tarihleri arasında izole edilen Mycobacterium tuberculosis suşlarının tüberkülostatiklere duyarlılıkları ve total direnç oranları, *İnfeksiyon Derg* 2: 251 (1988).
17. **Karabay O, Otkun M, Akata F, Karlıkaya C, Tuğ-**

**rul M, Dündar V:** Trakya bölgesinde antitüberküloz ilaç direnci ve ilişkili risk faktörleri, *İnfeksiyon Derg* 13: 43 (1999).

**18. Goble M, Iseman MD, Madsen L, Wait D, Ackerson L, Horsburg R:** Treatment of 171 patients with pulmonary tuberculosis resistant to isoniazid and rifampin, *N Engl Med* 328: 527 (1993).

**19. Biberoglu K:** Tedaviye dirençli tüberküloz, *İnfeksiyon Bülteni* 1: 34 (1996).

**20. Anonymous:** Initial therapy for tuberculosis era of multidrug resistance: Recommendations of Advisory Co-

uncil for the Elimination of Tuberculosis, *MMWR* 42 (RR-7): 001 (1993).

**21. Anđ Ö, Erturan Z:** Tüberkülozun dönüşü ve direnç sorunu, Anđ Ö, Uzun M, eds. Tüberküloz tanı, direnç, tedavi, *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını İstanbul* 17-25 (1996).

**22. Över U, Eskitürk A, Söyletir G, Babacan F, Bozok Johansson C:** Marmara Üniversitesi Hastanesi Mikobakteriyoloji Laboratuvarı verilerinin retrospektif değerlendirilmesi, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 26: 99 (1996).

1th FEMS CONGRESS OF  
EUROPEAN MICROBIOLOGISTS  
SLOVENIA – LJUBLJANA  
JUNE 29-JULY 3, 2003

[www.fems-microbiology.org/congress2003.htm](http://www.fems-microbiology.org/congress2003.htm)