MİKOBAKTERİYUM TÜBERKÜLOZİS'İN TÜBERKÜLO-STATİKLERE ÇAPRAZ DİRENÇLİĞİ ÜZERİNDE ELDE ETTİĞİMİZ SONUÇLAR

Dr. Ö. Fethi Tezok* **Dr. Kâzım Kurtar****

Dr. Salih Toppare*** **Vet. Hekim Doğan Yalçın******

Bu gün memleketimizde ve dünyada tüberküloz mevzuunda problem olmakta devam eden başlıca konu dirençli suşlardır. Dirençlikte akkiz ve primer dirençlik kadar çapraz dirençlilik te önem taşıdığı yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur.

Çapraz dirençlilik yalnız bir ilâca karşı direnç kazanmış olan bir bakteri topluluğunun henüz kullanılmamış diğer ilaçlara karşı da dirençli olma halidir (1, 11).

Bilhassa klinikte önem taşıyan bu konunun, tedavi yapan hekim tarafından bilinmesinde zaruret vardır. Bakteriyolojide çapraz dirençlik araştırmaları 1951 yılından beri yapılmakta ise de, tüberkülozda çapraz dirençlik çalışmaları 1960 da Rist ve Gernez-Rieux ile başlamış olup bu gün hala devam etmektedir. (5, 10).

Memleketimizde bu konu da yapılmış pek az çalışma vardır. Bizde bu çalışmamızda Gül. As. Tıp Ak. de izole edilen yerli suşlarımızın çeşitli tüberkülo-statiklere karşı çapraz dirençlilik durumlarını araştırdık.

Materyal ve Metod

Çalışmalarımız için lüzumlu metaryali Gülhane As. Tıp Akademisinin muhtelif kliniklerinden ve Mevki Hastanesinden gönderilen Patolojik maddelerden temin ettik. Bu marazi maddelerden izole edilen suşları deneyde kullandık. Bu 5 suş daha önce İSOXYL ve TBİ hariç diğer tüberkülo-statiklere dirençlilik testleri yapılmış ve % 100 hassas bulunmuş Hümen tip basillerdi. Bu suşlar laboratuvar protokol defterinde 509, 542, 543, 550 ve 590 numaralarda kayıtlıdır.

* Gülhane As. Trp Ak. İntaniye Kl. Direktörü, Prof. Tbp. Tuğgeneral
** Gülhane As. Tıp Ak. İntaniye Kl. Prof. Tbp. Alb.
*** Gülhane As. Tıp Ak. Sağ Araş. ve Biyo. Enst. Müdürü, Doç. Tbp. Yb.
**** Gülhane As. Tcp Ak. Sağ. Araş. ve Biyo. Enst. Müş. Uz. Vet. Hekim Yb.

Çalışmalarımızda besi yeri olarak Löwenstein - Jensen besi yerini kullandık. Deneyde kullanılan antibiyotikler sırası ile İNH, SM, PAS, ETHİO, CYCLO, VİO, KANA, TBİ ve İSOXYL'dir. İlâç dilüsyonları steril distile su içinde mcg/ml. olarak hazırlanmıştır. Su da erime kabiliyeti düşük olan ETHİONAMİD (Asetonda), İSOXYL ise (Alcool absolue'de) eritilmiştir.

Teknik olarak proporsiyon metodunu kullandık.

Hassas suşları dirençli hale getirirken çok düşük miktarlarda ilâç konsantrasyonları kullanılmış, besi yerine ilâve edilen ilâç miktarları her pasajda biraz daha arttırılmak sureti ile dirençli suşlar elde edilmiştir. Sonra bakterinin temas etmemiş olduğu tüberkülo - statiklere karşı çapraz direçlilik meydana gelip gelmediği standart gamalarla araştırılmıştır.

Normal Antibiyogram testlerinde kullanılan ilâç miktarları şöyledir.

İNH	için	0,1	0,2	1	gama/ml.
SM	»	2,5	5	10	»
PAS	»	0,25	0,5	1	»
ETHİO	»	10	20	30	»
CYCLO	»	20	30	40	»
VİO	»	20	30	40	»
KANA	»	10	20	30	»
İSOXYL	»	25	50	100	»

Ekim ve Enkübasyon : Saf kültürden 10^{-3} ve 10^{-5} dilüsyonlarda basil süspansiyonları hazırlanarak her ilâçlı tüpe 0,2 ml. miktarında ekim yapıldı. Ekilen tüpler 37°C de 27 gün bekletildikten sonra sonuçlar değerlendirildi.

Besi yerine ilâve edilen ilâç konsantrasyonları (gama/ml.) tedavi sırasında elde edilen kan serumundaki maksimum konsantrasyona göredir. Bu miktar (kritik konsatrasyon) adını almaktadır.

Tüberkülo - statiklere göre kritik konsantrasyon miktarları şöyledir.

(İNH için 0,2 gama/ml., Sm için 5, Pas için 0,5 ETHİO için 20 CYCLO için 30, VİO için 30, KANA için 20, TBİ için 0,5, İSOXYL için 2,5 gama/ml. dir).

Kritik konsantrasyonun altındaki dozlarda üreme olursa o suş hassas, üstündeki üremeler ise dirençli kabul edilmektedir. (4, 5, 9).

Bulgular

Materyal olarak kullandığımız 5 suşun özellikleri aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

TABLO 1

Protokol No.	İNH 0,2 ga/ml	Sm 5 ga/ml.	PAS 0,5 ga/ml.	ETHİO 20 ga/ml.	CYCLO 30 ga/ml.	VİO 30 ga/ml.	KANA 20 ga/ml.	NİTRAT	NİACİN	TCH	Katalaz		Peroksidaz	
											—	70°	—	70°
590	H	H	H	H	H	H	H	++	+++	+++	++	0	++	0
550	H	H	H	H	H	H	H	+	++	++	++	0	++	0
543	H	H	H	H	H	H	H	++	++	+++	++	0	++	0
542	H	H	H	H	H	H	H	+++	+++	++	++	0	+++	0
509	H	H	H	H	H	H	H	+	+	+++	++	0	++	0

H = % 100 Hassas

Bu suşları deneyde kullandığımız 9 tüberkülo-statik ilâca dirençli hale getirmek için, bir çok pasajlar yaptık. Bazı ilâçlar için 4, bazıları için 8 pasaj yapmak zorunda kaldık. En geç dirençlilik PAS'da elde ettik.

Çapraz dirençlilik deneylerine başladığımız zaman dirençli hale getirilen suşların, ilâçlara karşı dirençli oldukları gamalar 2 no.lu tabloda gösterilmiştir.

TABLO 2

SUŞLAR NO.	İNH x	SM x	PAS x	ETHİO x	CYCLO x	VİO x	KANA x	İSOXYL x	TBİ x
590	0,5	5	0,5	20	30	20	20	100	0,5
550	0,2	2,5	1	30	30	30	20	200	2,5
543	0,5	5	1	20	20	20	30	50	1,5
542	0,5	7,5	0,5	30	20	30	40	100	2,5
509	1	5	0,25	30	20	30	20	200	0,5

(x) gama/ml.i göstermektedir.

Tartışma ve Sonuç

Yaptığımız araştırma sonucunda majör antitüberkülo ilâçları (İNH, SM, PAS) arasında iki yönlü çapraz dirençlik bulamadık. Sadece İNH - SM ve SM - İNH arasında zayıf bir çapraz direçlilik tesbit ettik. PAS ile İNH ve SM arasında çapraz dirençlilik bulamadık. Aynı husus Logan (6) tarafından teyid edimiş olup, fakat tam olarak izah edilmemiştir. Sybalski'de (11) SM ile PAS arasında bir çapraz dirençlilikten bahsetmektedir. Tek ilâca ayrı ayrı dirençli hale getirmiş olduğumuz 5 suşun, diğer antitüberkülo ilâçlara çapraz dirençlilik durumları 3, 4, 5 no.lu çizelgede gösterilmiştir. Burada majörlere direçli suşların ekserisi ETHİONAMİDE ve İSOXYL'e direçli bulunmuştur. KANAMYCİN ile majörler arasında tek yönlü bir çapraz dirençlilik tesbit ettik. KANAMYCİN'e dirençli olan suşların hiç birini majörlere direçli bulamadık. Bir çok araştırıcılar'da bizim bulgularımızı teyid etmektedirler (2). Ayrıca İSOXYL ile diğer antitüberkülo ilâçlar arasında çift yönlü bir çapraz dirençlilik bulduk.

Gernez - Rieux ve arkadaşları da (3, 7) ETHİONAMİD ile İSOXYL arasında çift yönlü bir çapraz dirençlilik bulunduğunu bildirmişlerdir.

Deneyde kullandığımız her ilâca invitro olarak ayrı ayrı dirençli hale getirdiğimiz suşların, diğer tüberkülo - statiklere çapraz dirençlilik durumları toplu bir halde aşağıdaki çizelgelerde gösterilmiştir.

Yapmış olduğumuz bu çalışmaların sonuçlarına istinad ederek bazı tavsiyelerde bulunmayı faydalı mülâhaza ettik.

a) Bir tüberkülozlu hastadan izole edilen bakteriler şayet majör ilâçlara dirençli ise, böyle vakalarda ikinci bir ilâçla tedaviye başlamadan önce muhakkak antibiyogram testleri yapılmalıdır.

b) Bakteriler ETHİO, CYCLO, VİO, KANA ve TBİ'e dirençli iseler hassasiyet testi yapılmadan İSOXYL verilmemelidir.

c) İSOXYL'e dirençli bakteriler çıkaran her hangi bir hastaya esaslı tetkikler yapılmadan diğer minör antitüberkülo ilâçlar tavsiye edilmemelidir.

d) ETHİONAMİD ve İSOXYL'e dirençli bakteri izole edilen hallerde TBİ kullanmadan önce muhakkak antibiyogram testleri yapılmalıdır.

TABLO 3

NO.	İ N H					S M				P A S				
590	SM	ETHİO	KANA	İSOX.	TBİ	İNH	ETHİO	—	İSOX.	ETHİO	—	KANA	İSOX.	TBİ
550	SM	ETHİO	KANA	İSOX.	—	—	ETHİO	KANA	İSOX.	ETHİO	VİO	KANA	—	TBİ
543	—	—	—	İSOX.	TBİ	İNH	ETHİO	KANA	İSOX.	—	VİO	KANA	İSOX.	—
542	—	ETHİO	KANA	—	TBİ	—	ETHİO	KANA	İSOX.	ETHİO	—	—	İSOX.	—
509	—	—	—	—	—	—	ETHİO	—	İSOX.	ETHİO	VİO	—	—	—

TABLO 4

	ETHİONAMİD			CYCLOSERİNE			VİOMYCİNE			KANAMYCİN		
590		İSOX.	TBİ		İSOX.	TBİ	ETHİO	İSOX.	TBİ		VİO	İSOX.
550	—	—	TBİ	ETHİO	İSOX.	TBİ	ETHİO	—	TBİ	ETHİO	—	İSOX.
543	VİO	İSOX.	TBİ	—	—	TBİ	—	İSOX.	—	ETHİO	VİO	—
542	—	İSOX	—	ETHİO	İSOX.	TBİ	ETHİO	İSOX.	—	ETHİO	VİO	—
509	—	—	TBİ	—	İSOX.	—	—	—	TBİ	—	—	İSOX.

TABLO 5

	İSOXYL							
590	ETHİO	—	—	KANA	TBİ	ETHİO	VİO	İSOXYL
550	ETHİO	CYC.	VİO	—	TBİ	ETHİO	VİO	—
543	ETHİO	CYC.	—	KANA	TBİ	—	—	İSOXYL
542	—	—	VİO	KANA	TBİ	ETHİO	VİO	—
509	—	—	—	—	TBİ	—	—	İSOXYL

e) Minör antitüberkülo ilâçlarla tedavi etmek mecburiyeti olduğu hallerde; gerek majörlerle ve gerekse kendi aralarında çapraz dirençlilik mevcut olmayan CYCLO, VİO, KANA ve TBİ tavsiye edilmelidir.

Özet

Gülhane Sağlık Araştırma ve biyoloji Enstitüsü'nün Tüberküloz Referans Laboratuvarında izole edilen ve deneyde kullanılan tüberkülo - statiklere % 100 hassas olan 5 suşu İNH, SM, PAS, ETHİO, VİO, KANA, İSOXYL ve TBİ'e invitro oarak ayrı ayrı dirençli duruma getirdik.

Her ilâca muayyen gamalarda dirençli hale getirilen suşlar, normal antibiyogram testlerinde kullanılan antibiyotikli Löwenstein - Jensen besi yerlerine 3 er adet olarak ekildi. 37°C de 27 gün enkübe edildikten sonra sonuçlar değerlendirildi.

Buna göre :

1. İNH, SM ve SM, İNH arasında oldukça zayıf bir çapraz dirençlik tesbit edildi. PAS ile, İNH ve SM arasında böyle bir dirençlilik bulunamadı.

2. İNH'a dirençli olanlar: ETHİO, KANA, İSOXYL ve TBİ'ye SM'e dirençli suşlar : ETHİO, KANA, İSOXYL'e PAS'a dirençli suşlar: ETHİO, VİO, KANA, İSOXYL ve TBİ dirençli bulundular.

3. İSOXYL'e dirençli suşlar ile, ETHİO, CYCLO, VİO, KANA ve TBİ arasında iki yönlü ve tam bir çapraz dirençlilik bulduk.

4. CYCLO, VİO ve KANAMYCİNE dirençli suşlar ETHİONAMİDE'de direnç gösterdiler.

5. CYCLO, VİO, veCYCLO, KANAMYCİN arasında çapraz dirençlilik bulunamadı.

6. KANA-TBİ arasında da çapraz dirençlilik tesbit edemedik

Seçtiğimiz suşları invitro dirençli hale getirmek için 5 - 8 defa pasaj yapmak zorunda kaldık. Bu pasajlar sonucunda belki de spontan dirençlilik mutantların seleksiyonuna sebeb olduk.

Araştırma neticesinde oldukça fazla çapraz dirençlilik tesbit edişimizin sebebini yukarda arz ettiğimiz seleksiyonla ilgili olduğunu tahmin ediyoruz. Zira ne kadar fazla pasaj yapılırsa spontan dirençlilik mutantların o nisbette sahaya hakim olacaklarını yapılan araştırmalar teyid etmektedir (5).

Summary

CROSS RESİSTANCE OF MYCOBACTERİUM TUBERCULOSİS AGAİNST ANTİMYCOBACTERİALS

Dr. Ö. Fethi Tezok * **Dr. Kaya Kılıçturgay** **

Dr. Salih Toppare *** **Vet. Hekim Bakteriyolog Hayri Aktaş** ****

This paper is undertaken in an attempt to present the cross resistence problem of mycobacterium tuberculosis var. Hominis isolated in the Gülhane Military Medical Academy, Institute of Army Research and Biology, against different antimycobacterial agents.

In this study authors have obtained following results on cross resistence of mycobacterium tuberculosis against antimycobacterials.

1 — There is found a slight degree cross resistence between INH and SM, SM and INH. There is found no such cross resistence between PAS and INH, SM.

2 — Strains resistant to INH are found to be resistant to ETHİO, KANA, ISOXYL and TBİ. Strains resistant to SM are found to be resistant to ETHİO, KANA ISOXYL. Strains resistant to PAS are found to be resistant to ETHİO, VİO, KANA, ISOXYL and TBİ.

3 — Strains resistant to ISOXYL are found to be highly cross resistant to ETHİO, CYCLO, VİO, KANA, TBİ.

4 — Strains resistant to CYCIO - VİO and KANA are found to be resistant to ETHIO.

5 — There is found no cross resistence between CYCLO and KANA, as well CYCLO - VİO.

6 — There is found no cross resistence between KANA and TBİ.

In conclusion, according to our above mentioned results, it suggests that this high rate cross resistance obtained in our study, in great probability, is due to bacterial selection which might be produced by 5 - 8 cultural passages experimentally.

* Gülhane Military Medical Academy, Depart. of Infectious Diseases and Bacteriology ANKARA/TURKEY

LİTERATÜR

1. Cannetti, G., Rist, N., Grosses, J. (1963). Mesure de la sensibilite du bacille tuberculeux aux droques antibacillaires par la methode des proprotion. Rev. Tub. Pneume. 27, 217 - 272.
2. Favez, G., Vulliemoz, P., Breaud, P. (1963). Proprietes tuberculo-Statique de la 4 - Diisoamyloxy thio carbonilid (isoxyl), Schw. Med. Vol. 34, 1208 - 1210.
3. Gernez, R., Tacquet, T. (1960). Notre experiance du L'Ethionamide dans le traitment de la tuberculose pulmonaire, 5 - 53.
4. Gürsel, A. (1963). Tüberküloz bakteriyolojisinde antibiyotik ve antibakteriyellere karşı rezistans tayini testlerinin standardizasyonu lüzumu. Türk Hij. ve Tec. Bio. Derg. Cilt : 33, Sayı : 2.
5. Kreis, B. (1966). Resistance et survivance du bacille tuberculeux, Paris 110 - 131.
6. Logan, J. (1963). Effet du diisoamyloxy - Thiocarbonilide (isoxyl) sur le traitment de la tuberculose pulmonaire, tubercl. 44 - 298.
7. Lucchezi, M. (1963). Researches experimentales sur L'isoxyl. Acta tuberculose et pneumologica, Belgica, No : 1.
8. Marion, L., Raynaud, E., Seband, J. (1966). Revu de tuberculose et du pneumologie, 30, 140 - 158.
9. Payzın, S., Özsan, K., Ekrem, H., Fişek, N. (1965). Kemoterapötikler ve antibiyotikler. Genel Mikrobiyoloji, Ankara, 140 - 160.
10. Rist, N., Carnetti, G. (1963). Rev. Tub. Pneum. 27, 263.
11. Sybalski, W. (1954). Cross Resistance of M. Ranae to twenty-eight antimicrobial agents. Aplied Microbiologi. 69, 267.