

İZMİR GÖĞÜS HASTALIKLARI HASTANESİNDE ÇOK İLACA DİRENÇLİ TÜBERKÜLOZ OLGULARINDA PİRAZİNAMİD DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI

INVESTIGATION OF PYRAZINAMIDE RESISTANCE IN MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS CASES IN HOSPITAL OF PULMONARY DISEASES, İZMİR, TURKEY

Güneş ŞENOL¹, Meral COŞKUN¹, Ayriz Tuba GÜNDÜZ¹, Can BİÇMEN¹,
Mine GAYAF², Ayşe ÖZSÖZ²

¹ İzmir Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir.
(drshenol@yahoo.com)

² İzmir Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Hastalıkları Kliniği, İzmir.

ÖZET

Pirazinamid (PZA), tüberküloz (TB) tedavisinde kullanılan birincil ilaçlardandır. Bu çalışmada, hastanemize başvuran olgulardan izole edilen çok ilaca dirençli (ÇİD) TB ve tüm birincil anti-TB ilaçlara (streptomisin, izoniazid, rifampisin, etambutol) duyarlı *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) izolatlarında PZA direnç oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma, 2005-2007 yılları arasında hastanemiz laboratuvarında izole edilmiş ÇİD-MTB izolatlarını ve yine aynı dönem içinde izole edilen duyarlı suşlardan rastgele seçilmiş MTB izolatlarını kapsamaktadır. MTB izolatlarının kültürü, BACTEC 960 sıvı bazlı otomatize kültür sisteminde (Becton Dickinson, Sparks, MD) ve Löwenstein-Jensen katı besiyerinde yapılmıştır. Tiplendirmede BACTEC NAP prosedürü kullanılmıştır. Konvansiyonel birinci sıra anti-TB ilaç duyarlılığı, radyometrik BACTEC 460 sistemi, izolatların PZA duyarlılığı ise 100.0 µg/ml PZA kritik konsantrasyonu kullanılarak BD MGIT 960 PZA Kit (Becton Dickinson, Sparks, MD) ile çalışılmıştır. Çalışmaya alınan 65 adet birincil anti-TB ilaçlara duyarlı MTB izolatının 2 (%3.1)'sinde ve 63 adet ÇİD-MTB izolatının 16 (%25.4)'sında PZA direnci saptanmıştır. Sonuç olarak, bölgemizde ÇİD-MTB izolatlarında saptanan yüksek PZA direnç oranı nedeniyle ÇİD-TB olgularında PZA duyarlılığının çalışılması gerektiği, ancak yeni olgularda direncin düşük oranda bulunması nedeniyle rutin PZA duyarlılık testinin uygulanmasına gerek olmadığı düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: Çok ilaca dirençli TB, ilaç direnci, *Mycobacterium tuberculosis*, pirazinamid, İzmir.

ABSTRACT

Pyrazinamide (PZA) is one of primary drugs for antituberculous treatment. The aim of this study was to determine the rates of PZA resistance in multidrug-resistant (MDR) and susceptible *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) strains isolated from patients who were admitted to our hospital. MDR strains have been isolated between 2005-2007 years, and susceptible strains were chosen randomly among the collec-

tion of the strains of the same period. MTB isolates were grown in BACTEC 960 full automatized broth system (Becton Dickinson, Sparks, MD) and Lowenstein-Jensen solid medium. Identification was done by radiometric BACTEC 460 NAP procedure. Antibiotic susceptibility testing against conventional anti-tuberculous drugs (streptomycin, isoniazide, rifampisin, etambutol) was performed by the radiometric BACTEC 460 system and PZA susceptibility was worked out by BD MGIT 960 PZA Kit (Becton Dickinson, Sparks, MD) with the use of 100.0 µg/ml critical concentrations of PZA. As a result, two of the 65 (3.1%) MTB susceptible strains and 16 of 63 (25.4%) MDR-MTB isolates were found resistant to PZA. In conclusion, due to the high PZA resistance rate in MDR-MTB isolates, susceptibility testing against PZA should be done in MDR-TB cases; however, since PZA resistance rate was low in new susceptible cases, it was thought that testing susceptibility of PZA is not necessary as a routine procedure in our region.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance, multidrug-resistant tuberculosis, pyrazinamide, Turkey.

GİRİŞ

Tüberküloz (TB) tüm dünyada önemli bir toplum sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. TB hastalarının erken tanınması ve etkin tedavisi ile bulaş zincirinin kırılması hastalığın kontrolünde en önemli etkindir. Anti-TB ilaç direncindeki artış etkin tedaviyi olumsuz yönde etkilemektedir¹. Çok ilaca dirençli tüberküloz (ÇİD-TB) prevalansının yüksek olduğu bölgelerde Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün önerdiği Doğrudan Gözetimli Tedavi Stratejisi (DOTS) beklenen başarıyı gösterememiştir. Bunun üzerine geliştirilen DOTS-plus stratejisinde standart tedavi şeması yerine, antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına uygun olarak tedavinin planlanması önerilmiştir. Amerikan Hastalık Koruma ve Kontrol Dairesi de [Centers for Disease Control and Prevention (CDC)] her hastadan izole edilen ilk *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) kompleks izolatına birincil anti-TB ilaçlar için duyarlılık testi yapılmasını önermektedir^{2,3}.

Pirazinamid (PZA) TB tedavisinde kullanılan birincil ilaçlardandır. Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü [Clinical and Laboratory Standards Institutes (CLSI)], PZA'yı duyarlılık testinde ilk çalışılması gereken anti-TB ilaçlar arasında bildirmektedir⁴. PZA, nikotinamidin sentetik pirazin analogu olup, asidik pH değerinde (pH= 5.5) aktivite gösterir. Oldukça güçlü tüberkülozid etkisi vardır. Bu etkisini hem çoğalma halindeki, hem de "dormant" duruma geçmiş mikobakteriler üzerinde gösterir. Monositler ve makrofajlar içindeki yavaş çoğalan mikobakteriler üzerinde en etkili anti-TB ilaçtır. PZA, TB tedavi süresinin kısaltılmasında çok önemli bir rol oynar; zira PZA, diğer TB ilaçları tarafından öldürülmeyen asidik bir ortam olan makrofaj fagolizozomlarındaki yarı "dormant" basil grubunu öldürerek in vivo olarak sterilizan etki gösterir. Mikobakterilerin PZA'ya duyarlılığı özgün amidazın varlığına bağlıdır. PZA, mikobakteri hücre duvarından difüze olur ve amidazın PZA ve nikotinamidi hidrolize etmesiyle ilacın aktif formu olan pirazinoik asit oluşur. Dirençli suşlarda pirazinamidaz aktivitesinde kayıp belirlenmiştir. Dirençli suşların %72-94'ünde bu enzimi kodlayan *pncA* gen bölgesinde mutasyonlar saptanmıştır^{5,6}.

Anti-TB ilaçların duyarlılık testleri içinde referans yöntem olarak önerilen agar proporsiyon yönteminde ise, besiyerinin asiditesini hem PZA'nın aktivitesini koruyacak hem de mikobakterilerin üremeleri için optimum şartları sağlayacak pH'ya ayarlamak teknik ola-

rak zordur. Bu nedenle PZA'ya karşı MTB izolatlarının duyarlılığını belirlemede CLSI, sıvı bazlı besiyerlerini önermektedir. Ticari BACTEC 460 TB duyarlılık test yöntemi uzun yıllar referans yöntem olarak kabul edilmiştir⁴. Ancak 2002 yılında yine aynı üretici firmaya ait olan MGIT 960 sıvı bazlı otomatize PZA ilaç duyarlılığı yöntemi "Food and Drug Administration (FDA)" tarafından onaylanmıştır. Pfyffer ve arkadaşları⁷ tarafından yapılan çalışmada, MGIT 960 yöntemi ile 460 TB yöntemi arasında süre ve duyarlılık açısından fark bulunmamış; daha az iş yükü oluşturması, otomatize standart okuma prosedürü, enjektör kullanılmamasından dolayı personel yaralanmasının olmaması ve radyoaktif atık çıkarmaması gibi avantajları belirtilmiştir. Her iki yöntem de uygulanması orta derecede zor, ancak agar proporsiyon yöntemine göre oldukça pahalı testlerdir.

Ülkemizde, TB laboratuvarlarında PZA için duyarlılık testi rutin olarak yapılmadığından, bölgemizde ve ülke genelinde MTB izolatlarının PZA direnci oranları bilinmemektedir. Bu nedenle çalışmamızda, bölgenin göğüs hastalıkları ve TB konusundaki en büyük referans merkezi olan hastanemize başvuran veya sevk edilen olgularda PZA duyarlılık oranlarının araştırılarak epidemiyolojik verilere katkıda bulunulması ve laboratuvarımızın duyarlılık testi panellerinin en uygun şekilde yapılandırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

İzolatlar

Bu çalışmada, 01 Ocak 2005-31 Aralık 2007 tarihleri arasında, Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen, farklı hastalara ait klinik örneklerinden ilk izole edilmiş, PZA dışında tüm birincil anti-TB ilaçlara [rifampisin (R), izoniazid (I), etambutol (E), streptomisin (S)] duyarlı 65 MTB suşu ve 63 ÇİD-MTB suşu olmak üzere, toplam 128 izolat test edildi.

Kültür ve Antibiyotik Duyarlılık Testi

Klinik örnekler, NaOH-trisodyum sitrat-NALC yöntemi ile MYCOPROSAFE (Salubris Ltd, İstanbul) ticari kiti kullanılarak homojenize, dekontamine ve konsantre edilip, üretici talimatları doğrultusunda BD BACTEC 960 (Becton Dickinson, Sparks, MD) otomatize kültür sistemine ekildi. Üreme olan tüplerden tanımlama amacıyla BD BACTEC 12B TB (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA) kültür şişelerine pasaj yapılarak BACTEC 460 NAP testi (Becton Dickinson, Sparks, MD) ile izolatların MTB kompleks olup olmadıkları BD BACTEC 460 TB sisteminde okutularak değerlendirildi. *M. tuberculosis* suşlarının kesin tanımlarında, laboratuvarın standart tanımlama prosedürü gereği konvansiyonel biyokimyasal testler ve/veya moleküler yöntemler (Genotype Mycobacterium CM, Hain Lifescience, Almanya) kullanıldı. Suşların PZA dışındaki birincil anti-TB ilaçlara karşı duyarlılıkları BD BACTEC 460 TB radyometrik kültür sistemi (Becton Dickinson, Sparks, MD) kullanılarak araştırıldı⁸⁻¹⁰.

PZA Duyarlılık Testi

MTB izolatlarının PZA duyarlılıkları, üretici firma önerileri doğrultusunda BD MGIT 960 PZA Kit ve PZA Medium (Becton Dickinson, Sparks, MD) ve 100.0 µg/ml PZA kritik konsantrasyonu kullanılarak test edildi⁷. Çalışmada antibiyotik duyarlılık kontrol suşları

olarak *M.tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294) (PZA duyarlı) ve *M.avium* (PZA dirençli) kullanıldı. Tüm PZA dirençli izolatlar iki kez çalışıldı.

İstatistiksel Değerlendirme

Duyarlı ve dirençli izolatlar arasındaki ilişki Fisher exact test ile değerlendirildi. İstatistiksel olarak 0.05'in altındaki p değeri anlamlı olarak kabul edildi.

Çalışmada kullanılan yöntemler ve adı geçen terimlerin tanımları Tablo I'de verildi^{1,11,12}.

Tablo I. Çalışmada Kullanılan Yöntemler ve Adı Geçen Terimlerin Tanımları

Anti-TB ilaç direnci	Kültür vasatındaki basil popülasyonunun %1'den fazlasının bir TB ilacının kritik konsantrasyonuna direnç göstermesidir.
Kritik konsantrasyon	Laboratuvarda kültür vasatındaki basil popülasyonunun en az %99'unun üremesini inhibe eden ilaç konsantrasyonudur.
Agar proporsiyon yöntemi	Referans yöntemdir. 10 ⁻² , 10 ⁻⁴ dilüsyonlu inokulumlar kullanılır. İlaçsız besiyerinde üreyen koloni sayısı ile ilaçlı besiyerinde üreyen koloni sayısı oranlanır. %1'den fazla oranlar direnci gösterir.
BACTEC 460 sistemi	Yarı otomatize, radyometrik ¹⁴ C işaretli palmitik asit içeren BACTEC 12B besiyeri kullanılan bir sistemdir. İşaretli palmitik asit kullanımına bağlı açığa çıkan ¹⁴ CO ₂ üreme indeksi (GI) yükselmesi takip edilir.
BACTEC 460 NAP sistemi	NAP (p-nitro-a-acetylamine-b-hydroxyprophonone)'ın MTB suşlarının üremesini inhibe etmesinden yararlanarak MTB kompleks tanımlanmasında kullanılır.
BACTEC MGIT 960 sistemi	Tam otomatize, radyometrik olmayan MGIT tüpünün dibindeki silikon içine floresan madde gömülüdür. Floresan madde sıvı besiyerindeki oksijen varlığına duyarlıdır. Üreyen mikobakterilerce oksijenin kullanılması sonucu floresans oluşumu olur ve cihazın tarayıcısı tarafından kaydedilir.
İlaça dirençli TB	Bir ya da daha fazla anti-TB ilaca karşı dirençli basil çıkaran hastadır.
Çoklu ilaç direnci	Birden fazla anti-TB ilaca karşı görülen direnç türüdür.
ÇİD-MTB	En az izoniazid ve rifampisine direnç gösteren MTB suşu varlığını ifade eden özel bir çoklu ilaç paternidir.
Yeni olgu	Daha önce TB tedavisi görmemiş ya da bir aydan daha az süre tedavi almış hastalardır.
Eski olgu	Daha önce en az bir ay tedavi görmüş TB hastasıdır. Bu tanım, nüks, tedavi başarısızlığından dönen, tedaviyi terkten dönen ve kronik olguları içermektedir.
Primer direnç	Daha önce hiç TB tedavisi almamış ya da bir aydan daha kısa süre TB ilacı kullanmış hastadaki dirençtir.
Başlangıç direnci	Daha önce tedavi görüp görmediği konusunda şüphe varsa saptanan dirence "başlangıç direnci" denir. Başlangıç direnci, primer direnç ve bilinmeyen edinsel direnci kapsar.
Edinilmiş ilaç direnci	Artık sekonder direnç terimi yerine "edinsel direnç" terimi kullanılmaktadır. Daha önce bir aydan fazla TB ilacı kullanmış olan hastadaki dirençtir. Daha önce kullanılmış TB ilaçlarına bağlı gelişen ilaç direncidir. Eğer primer dirençli bir hastada daha sonra başka bir ilaca edinsel direnç gelişirse karma (mixed) tip dirençten bahsedilir.

TB: Tüberküloz, MTB: *Mycobacterium tuberculosis*.

BULGULAR

Çalışmamızda, PZA dışındaki tüm birincil anti-TB ilaçlara duyarlı olan 65 MTB izolatından 2 (%3.1)'sinin PZA'ya dirençli olduğu bulunmuştur. ÇİD-TB izolatları arasında ise PZA direncinin 63 suş içinde 16 suşta olduğu saptanmıştır (%25.4) (Tablo II). Duyarlı izolatlar arasında PZA direnç oranı, ÇİD izolatlara göre anlamlı olarak düşüktür ($p > 0.001$).

ÇİD-TB suşlarının izole edildiği iki hastada başlangıç direnci, geri kalan 61 hastada edinsel direnç saptanmıştır. ÇİD-TB izolatlarının direnç paternleri Şekil 1'de verilmiştir. Dörtlü ilaç direnci olan izolatlarda PZA direnci %40 ile en yüksek oranda izlenirken; izoniazid-rifampisin-etambutol (IRE) ve izoniazid-rifampisin-streptomisin (IRS) üçlü direnç paterninde sırasıyla %31 ve %33 oranlarında PZA direnci saptanmış, izoniazid-rifampisin (IR) ikili direnç paterninde PZA direnci tespit edilmemiştir. İlaç direnç paternleri ve PZA direncinin varlığı arasında IR paterni dışında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p > 0.05$). IR paterni ise sadece PZA'ya duyarlı suşlarda izlenmiştir ($p < 0.05$). Duyarlı suşların izole edildiği tüm hastalar yeni olgulardır.

TARTIŞMA

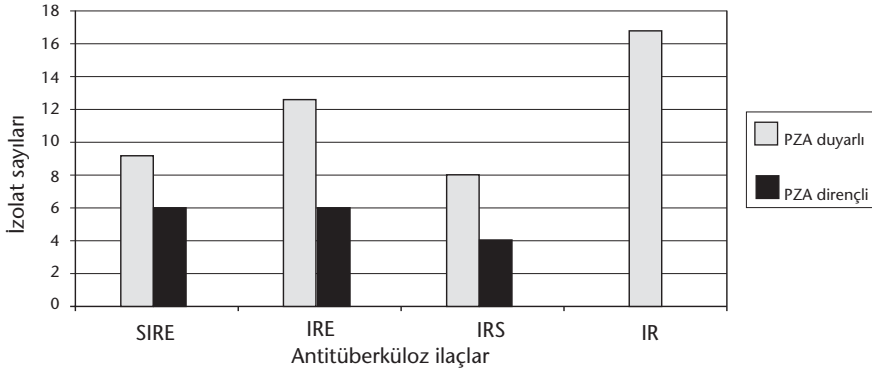
Ülkemizde TB laboratuvarları, gerek teknik altyapı ve ekipman yetersizliği gerekse yüksek maliyet nedeniyle rutin olarak PZA duyarlılık testi yapmamaktadır^{13,14}. Dünyada bir-

Tablo II. *M.tuberculosis* İzolatlarının PZA Duyarlılık Oranları

	PZA-dirençli Sayı (%)	PZA-duyarlı Sayı (%)	p
Duyarlı izolatlar* (n= 65)	2 (3.1)	63 (96.9)	< 0.001
ÇİD-TB izolatları** (n= 63)	16 (25.4)	47 (74.6)	

* PZA dışındaki tüm birincil ilaçlara duyarlı MTB izolatları.

** ÇİD-MTB izolatları.



Şekil 1. ÇİD-TB izolatlarının antitüberküloz ilaç direnç paternleri.

çok ülkede de durum benzerdir. Bu nedenle PZA direnç oranları ile ilgili veriler yetersizdir. Yolsal ve arkadaşlarının¹⁵ yaptığı bir meta-analizde, ülkemizde yapılan çalışmalarda, izole edilen tüm suşlar arasında PZA direnç oranının 1984-1989 yılları arasındaki çalışmalara göre %1.6, 1990-1995 yılları arasında ise %6.5 olduğu rapor edilmiştir. Samsun bölgesinde izole edilen 50 MTB suşunun incelendiği bir çalışmada ise, suşların sadece 1 (%2)'inde izoniazid direnci ile birlikte PZA direnci saptanmıştır¹⁶. Farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda, birinci sıra ilaçlara duyarlı bulunan izolatlar arasında %2-5 oranlarında PZA duyarlılığı bildirilmiştir^{13,17-19}.

Düzensiz ilaç kullanımı ve ilaç direnci, özellikle ÇİD-TB tedavisindeki başarısızlıkların en önemli nedenlerindendir¹¹. ÇİD-TB olgularının tedavi şemalarında ikinci sıra anti-TB ilaçların yanı sıra PZA da kullanılmaktadır^{12,20,21}. Ancak PZA direncinin bu grup olgulardan izole edilen MTB suşlarında daha fazla olduğu görülmektedir. Mestdag ve arkadaşları²², 63 ÇİD-MTB izolatının 23 (%36.5)'ünde PZA'ya direnç bildirmişlerdir. Louw ve arkadaşları¹⁷ ise 127 ÇİD-TB olgusunun 68 (%53.5)'inde PZA direnci saptamışlar ve PZA direnci ile ÇİD-TB arasında sıkı bir ilişki olduğunu belirtmişlerdir. Mphahele¹⁹ de çalışmasında, 85 ÇİD-TB izolatının 30 (%35.3)'unda PZA direnci bulunduğunu rapor etmiştir. Dünyanın en yüksek anti-TB ilaç direncine sahip bölgelerinden biri olan Litvanya'dan toplanan 52 ÇİD-TB izolatı, CDC'nin referans laboratuvarında çalışılmış ve PZA direnci %51 oranında tespit edilmiştir²³.

Yüksek ilaç direncinin problem olduğu bir diğer ülke olan Rusya'da yapılan bir çalışmada, sivil ve mahkum hastalardan izole edilen suşların anti-TB ilaç dirençleri analiz edildiğinde, yeni sivil olgularda PZA direnci %6.1, önceden tedavi almış (eski) sivil hastalarda %14.6 bulunmuştur²⁴. Ancak ilginç olarak, mahkum hastalarda PZA direnci, yeni ve eski olgularda sırasıyla %13 ve %5.3 olarak saptanmıştır. Bu çalışma, primer direnç oranlarının yüksek olduğu topluluklarda yeni olgularda da önemli PZA direnci olabileceğini göstermektedir²⁴.

Çalışmamızda, bölgemizde PZA direncinin yeni olgularda ve duyarlı suşlarda düşük oranlarda olduğu, ancak ÇİD-TB olgularında özellikle dirençli ilaç sayısı arttıkça PZA direnç oranının da arttığı saptanmıştır. Bu nedenle tüm duyarlılık testlerinde PZA duyarlılığına bakılmasının gerekli olmadığı, tedavi başarısızlığı veya ÇİD-TB olgularında ise test edilmesinin uygun olacağı düşünülmüştür. Ülkemizin diğer bölgelerinden daha fazla izolat sayısı ile ulusal TB referans laboratuvarında PZA ve diğer anti-TB ilaç direnç oranlarının belirlenmesinin, ulusal duyarlılık testi politikası geliştirmek açısından önemli olacağı sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. WHO report 2007. World Health Organization, Geneva. WHO/HTM/TB/2007, 376.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Initial therapy for tuberculosis in the era of multidrug resistance. Recommendations of the advisory council for the elimination of tuberculosis. MMWR 1993; 42 (RR-7): 1-8.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Controlling Tuberculosis in the United States. Recommendations from the American Thoracic Society, CDC, and the Infectious Diseases Society of America. MMWR 2005; 54 (RR-12): 1-81.

4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardia, and other aerobic Actinomycetes. Approved Standard, NCCLS Document M24-A, 2003. Wayne, Pennsylvania.
5. Kiraz N. Antitüberküloz ilaçlara direnç mekanizmaları ve yeni ilaçlar, s: 174-7. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu Kurs Kitabı, 11-12 Haziran 2003, Samsun.
6. Çilli A. Antitüberküloz ilaçlar ve etki mekanizmaları, s: 163-9. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu Kurs Kitabı, 11-12 Haziran 2003, Samsun.
7. Pfyffer GE, Palicova F, Rüsç-Gerdes S. Testing of susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to pyrazinamide with the nonradiometric BACTEC MGIT 960 system. J Clin Microbiol 2002; 40: 1670-4.
8. Della-Latta P. Mycobacteriology and Antimycobacterial Susceptibility Testing, pp: 7.7.1 - 7.8.5. In: Isenberg HD (ed-in-chief), Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2004, 2nd ed. ASM Press, Washington, DC.
9. Woods GL. Susceptibility testing for mycobacteria. Clin Infect Dis 2000; 31: 209-11.
10. Siddiqi SH. BACTEC 460TB System Product and Procedure Manual. 1996, Becton Dickinson and Company, Maryland, USA.
11. The WHO/IUATLD Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance: Anti-tuberculosis drug resistance in the world. Report number 3. 2004, Geneva.
12. World Health Organization. Guidelines for the management of drug-resistant tuberculosis. 1997, Geneva, Switzerland.
13. Cheng SJ, Thibert L, Sanchez T, Heifets L, Zhang Y. *pncA* mutations as a major mechanism of pyrazinamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: spread of a monoresistant strain in Quebec, Canada. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 528-32.
14. Durmaz R. *Mycobacterium tuberculosis*'de direnç sorunu. Ankem Derg 2005; 19: 107-10.
15. Yolsal N, Malat G, Dişçi R, Örkün M, Kılıçaslan Z. Türkiye'de tüberküloz ilaçlarına direnç sorununun 1984-1989 ve 1990-1995 yılları için karşılaştırılması: Meta-analiz. Klimik Derg 1998; 1: 6-9.
16. Karadağ A, Tokaç M, Güvenli A, Sünbül M, Günaydın M, Saniç A. Klinik örneklerden izole edilen tüberküloz basili kompleksinin majör antitüberküloz ilaçlara direnç oranları. Ankem Derg 2004; 18: 189-92.
17. Louw GE, Warren RM, Donald PR, et al. Frequency and implications of pyrazinamide resistance in managing previously treated tuberculosis patients. Int J Tuberc Lung Dis 2006; 10: 802-7.
18. Heffernan H. Antituberculosis drug resistance in New Zealand. Antibiotic Reference Laboratory Communicable Disease Group ESR, 2006, Porirua.
19. Mphahlele MT. Pyrazinamide resistance among multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from South-African pulmonary tuberculosis patients. 2005, University of Bergen, MPhil thesis.
20. Özkara Ş, Aktaş Z, Özkan S, Ecevit H. Türkiye'de Tüberkülozun Kontrolü İçin Başvuru Kitabı. Sağlık Bakanlığı, Verem Savaş Daire Başkanlığı. 2003, 1. Baskı. Reklam, Ankara.
21. American Thoracic Society Documents. American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/ Infectious Diseases Society of America: Treatment of Tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med 2003; 167: 603-2.
22. Mestdagh M, Fonteyne PA, Realini L, et al. Relationship between pyrazinamide resistance, loss of pyrazinamidase activity, and mutations in the *pncA* Locus in multidrug-resistant clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 2317-9.
23. Dewan P, Sosnovskaja A, Thomsen V. High prevalence of drug-resistant tuberculosis, Republic of Lithuania, 2002. Int J Tuberc Lung Dis 2005; 9: 170-4.
24. Ruddy M, Balabanova Y, Graham C, et al. Rates of drug resistance and risk factor analysis in civilian and prison patients with tuberculosis in Samara Region, Russia. Thorax 2005; 60: 130-5.