
Mycobacterium tuberculosis'in Streptomisin, Kanamisin ve Amikasin Karşı İn Vitro Duyarlılığı ve Bu İlaçlar Arasındaki Çapraz Direnç İlişkisi#

Fethiye ÖKTEN*, Arzu ERTÜRK*, Aynur MUTLU*, Haluk ÇALIŞIR*, Oya YENER*, Mihriban ÖGRETENSOY*

* Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, ANKARA

ÖZET

Çok ilaca dirençli tüberküloz tedavisindeki uygun ilaç seçiminde çapraz direncin düşünülmesi önemlidir. Streptomisin direnci varsa veya yüksek olasılıkla dirençten şüphe ediliyorsa diğer bir aminoglikozid kullanılabilir. Çalışmamızda, *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı streptomisin, kanamisin ve amikasin arasında çapraz direnci araştırmayı amaçladık. Çalışmaya, akciğer tüberkülozlu hastalardan elde edilen 100 kültür pozitif balgam örneği alındı. Streptomisin ve kanamisin arasında çapraz direnç saptadık ($p < 0.01$). Amikasin ve kanamisin arasında da çapraz direnç vardı ($p < 0.001$). Streptomisin ve amikasin arasında çapraz direnç saptanmadı ($p > 0.05$). Streptomisine dirençli suşların amikasinine hassas olabileceği sonucuna vardık.

Anahtar Kelimeler: Tüberküloz, aminoglikozid, çapraz direnç.

SUMMARY

In Vitro Susceptibility of Mycobacterium tuberculosis to Streptomycin, Kanamycin, Amikacin and Cross Resistance Between These Drugs

Consideration of cross resistance is important for selecting the acceptable drug for treatment of apparent or proven multidrug resistant tuberculosis. When resistance to streptomycin is proved or highly suspected, one of the other aminoglycosides can be used. We aimed to determine the cross resistance in *Mycobacterium tuberculosis* strain between streptomycin, kanamycin, amikacin. 100 culture positive sputum specimens of lung tuberculosis patients were involved in this study. We found cross resistance between streptomycin and kanamycin ($p < 0.01$). There was also cross resistance between kanamycin and amikacin ($p < 0.001$). Cross resistance was not observed between streptomycin and amikacin ($p > 0.05$). We conclude that strains resistant to streptomycin are susceptible to amikacin.

Key Words: Tuberculosis, aminoglycoside, cross resistance.

Bu çalışma, "European Respiratory Society" Yıllık Kongresi (9-13 Ekim 1999, Madrid)'nde poster olarak sunulmuştur.

Tüberküloz (Tbc) hastalığı dünyanın önemli sağlık sorunlarından biri olmaya devam etmektedir, ilaç direnci konusu bu sorunun en önemli parametrelerinden biridir. Ülkemizde 1 ilaca direnç oranı %45.6; 2 ilaca direnç oranı %21; 3 ilaca direnç oranı %13 olup yüksek değerlerdedir (1). Türkiye’de 5 büyük eğitim hastanesindeki verilere göre; Tbc’de ortalama primer çok ilaç direnç (ÇİD) oranı %3.6, sekonder ÇİD oranı %17.3 olarak saptanmıştır (2). İki büyük eğitim hastanesinin son yıllardaki verilerinde ise primer streptomisin direnci %23 ve %10.2; sekonder streptomisin direnci ise %33.9 ve %24.4 olarak saptanmıştır (3,4). ÇİD-Tbc tedavisindeki ilaç seçiminde çapraz direnç ilişkisi önemli bir sorundur. Streptomisine karşı direnç saptandığında veya yüksek olasılıkla dirençten şüphe duyulduğunda bir diğer aminoglikozid ilaç kullanılması genellikle gerekmektedir.

Çalışmamızda, Tbc tedavisinde kullanılmakta olan aminoglikozid ilaçlardan streptomisin, kanamisin ve amikasin arasındaki çapraz direnci araştırmayı amaçladık.

MATERYAL ve METOD

Ankara Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi’nden Bakteriyoloji Laboratuvarı’na poliklinik ve servislerden gönderilen materyallerden farklı hastalara ait kültür-pozitif 100 örnek çalışma için rastgele seçildi. Amikasinin etken maddesi standart toz olarak Fako firmasından sağlandı. Etilen glikolde eritildikten sonra hazırlanan 2, 4 ve 8 µg/mL’lik solüsyonları bekletilmeden kullanıldı. Kanamisin’in etken maddesi, Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü’nden standart toz olarak sağlandı. Etilen glikolde eritildikten sonra distile su ile hazırlanan 20 µg/mL, 30 µg/mL’lik konsantrasyonları bekletilmeden kullanıldı. Duyarlılık testinde Canetti ve arkadaşlarının önerdiği pro-

porsiyon yöntemi kullanıldı (5). Löwenstein-Jensen kültür ortamında üreyen *Mycobacterium tuberculosis* kültürlerinden öze ile alınan basiller deney tüpünde homojen duruma getirildikten sonra standart eşel solüsyonlar hazırlandı.

Ekimler iki ilaçsız kontrol tüpüne ve aynı miktarlarda ilaçlı tüplere yapıldı. Tüpler 37°C’de etüvlerde 28 günlük inkübasyondan sonra değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirme yüzdeler arasındaki farkın önemlilik testine göre yapıldı.

BÜLGÜLAR

Streptomisin direnci; 4 µg/mL konsantrasyonda 19 suşta (%19) dirençli, 8 µg/mL konsantrasyonda 16 suşta (%16) dirençli saptanmıştır. Amikasininde bu konsantrasyonlardaki dirençli suş sayısı sırasıyla 19 (%19) ve 3 (%3)’tür. Kanamisin için ise 20 µg/mL konsantrasyondaki dirençli suş sayısı 18, 30 µg/mL konsantrasyonlardaki dirençli suş sayısı 1 olarak bulunmuştur. Sonuçlar Tablo 1’de izlenmektedir. Kappa metodu ile yapılan istatistiksel değerlendirmede; streptomisin direnci bulunan suşlarda kanamisin direnci, streptomisine duyarlı suşlarda kanamisin duyarlılığı istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bulundu ($p < 0.01$). Kanamisine dirençli suşlarda amikasin direnci, kanamisine duyarlı suşlarda amikasin duyarlılığı istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bulundu ($p < 0.001$). Streptomisin ve amikasin arasında ise çapraz direnç açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p > 0.05$).

TARTIŞMA

Günümüzde Tbc ilaçlarına karşı artan ilaç direnci önemli bir sorun haline gelmiştir (6,7). Streptomisin ilk keşfedilen anti-Tbc ilaç olmasına karşın, günümüzde halen ilk seçenek ilaçlar arasında önemini korumaktadır (8).

Tablo 1. Streptomisin, amikasin ve kanamisine dirençli suş sayısı.

	MIC (µg/mL)	Dirençli suş sayısı	MIC (µg/mL)	Dirençli suş sayısı
Streptomisin	4	19	8	16
Amikasin	4	19	8	3
Kanamisin	20	18	30	1

MIC: Minimal inhibitör konsantrasyonu.

Kanamisin; 1957 yılında bulunmuş, streptomisin ile aralarında tek yönlü direnç olduğu gösterilmiş ve ikincil tedavide kullanılan ilaçlar arasına girmiştir. Amikasin; kanamisinin semisentetik türevidir, kanamisinden daha düşük konsantrasyonlarda *M. tuberculosis* suşlarını inhibe ettiği gösterilmiştir (9).

Aminoglikozidler ribozomal protein sentezini inhibe ederek ve mRNA'da genetik bilginin doğru okunuşunu engelleyerek bakterisidal etki göstermektedirler, aminoglikozidlere karşı bakteride kazanılan direncin en önemli nedeni plazmidler ya da transpozanlar aracılığı ile kazanılan modifiye edici enzimlerdir (10,11). Mikobakterilerde ise bu şekilde dışarıdan kazanılan elementlerle direnç gelişimi tanımlanmamıştır. *M. tuberculosis*'te streptomisine karşı direnç gelişimi ribozomda meydana gelen mutasyonlar ile olmaktadır, mutasyon başlıca rpsL geninde olmaktadır, rrs geni sekonder mutasyon yeridir (12).

Alangaden ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada, amikasin ve kanamisine dirençli 13 *M. tuberculosis* klinik izolatında rrs geninde mutasyon saptamışlardır (13).

Streptomisine karşı direnç gösterildiğinde ÇİD-Tbc tedavisinde diğer bir aminoglikozid ilaç kullanılmaktadır. Amikasinin, *M. tuberculosis*'e karşı minimal inhibitör konsantrasyonu 2 µg/mL ve altında hassas, 4 µg/mL'de orta derecede hassas, 8 µg/mL'de orta derecede dirençli, 16 µg/mL ve üzerinde dirençli olarak belirtilmektedir (14). Gangadharam ve arkadaşları, 20 *M. tuberculosis* suşunun Löwenstein-Jensen besiyerinde amikasin duyarlılığını araştırdıkları çalışmada suşların tamamının 6.6 µg/mL'de üremediğini bildirmişlerdir (15).

Seyfikli ve arkadaşlarının çalışmasında, ilaç direnci olmayan suşlarda ve en az 1 ilaca dirençli suşlarda amikasin direnci 8 µg/mL'de; sırasıyla %13 ve %18, tüm örneklerde ise %15.5 oranında saptanmıştır (16). Bizim çalışmamızda, ilaç direnci olup olmadığına bakılmaksızın ardışık farklı hastalara ait 100 örnek seçilmiş ve amikasin direnci 8 µg/mL'de %3 olarak bulunmuştur. Her iki çalışmada elde olunan sonuçlar arasındaki farkın laboratuvar tekniğinin uygulanışı, kullanılan malzemelerin niteliği gibi nedenlerden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Hoffner ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, streptomisin ve amikasin arasında çapraz direnç tespit etmemişler ve streptomisin direnci olan olgularda amikasinin seçilebileceğini belirtmişlerdir (17).

Yener ve arkadaşları ise kanamisine karşı direnci araştırmışlar, primer direnci 20 µg/mL'de %5, 30 µg/mL'de %4 olarak bulmuşlardır (18). Aysev, streptomisine dirençli 49 suşun 10'unda amikasin 6 µg/mL'de, kanamisine 20 µg/mL'de direnç olduğunu saptamış ve sonucu amikasin ve kanamisin arasında tam çapraz direnç olarak değerlendirmiştir (19). Allen ve arkadaşları da akciğer Tbc'si nedeni ile önceden kanamisin kullanan 11 hastada, amikasin ve kanamisin arasında tam çapraz direnç tespit etmişlerdir (20). Biz çalışmamızda, kanamisine 20 µg/mL'de %18, 30 µg/mL'de %1 direnç saptadık. Yapılan çalışmalarda, amikasin ve kanamisine direnç oranları Tablo 2 ve Tablo 3'te özetlenmiştir.

Biz de 3 ilaç arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede streptomisin ile kanamisin, kanamisin ile amikasin arasında doğru orantılı bir ilişki saptadık ve sonucu çapraz direnç olarak değerlendirdik. Streptomisin ve amikasin arasında ise

Tablo 2. Yapılan çalışmalarda amikasin direnci.

	Suş sayısı	MIC (µg/mL)	Dirençli suş oranı (%)
Gangadharam (15)	20	6.6	0
Seyfikli (16)	200	8	15.5
Aysev (19)	49	6	20.4
Ökten	100	8	3

MIC: Minimal inhibitör konsantrasyonu.

Tablo 3. Yapılan çalışmalarda kanamisin direnci.

	Suş sayısı	MIC (µg/mL)	Dirençli suş oranı (%)
Yener (18)	200	20	5
		30	4
Aysev (19)	49	20	20,4
Ökten	100	20	18
		30	1

MIC: Minimal inhibitör konsantrasyonu.

çapraz direnç açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Çalışmamız sonucunda, streptomisin direnci tespit edilen veya düşünülen olgularda amikasin kullanılabilen sonuçuna ulaştık.

KAYNAKLAR

1. Uçan ES. Türkiye'de antitüberküloz ilaçlara direnç sorunu. *Tüberküloz ve Toraks* 1994; 42: 219-25.
2. Şipit YT, Çalışır HC. Tüberkülozda ilaç direnci ve Türkiye. *Tüberküloz ve Toraks* 1998; 46: 4-11.
3. Sevim T, Ataç G, Hatipoğlu T ve ark. 1993-1995 yıllarında hastanemizde yatan 2161 akciğer tüberkülozu olgusunun primer ve sekonder ilaç direnç oranları. *Solunum Hastalıkları* 1999; 10: 231-7.
4. Oğul E, Gür E, Özdemir A ve ark. Yedikule Göğüs Hastalıkları Hastanesi'nde 1995-1997 yılları arasında yatan tüberküloz olgularında primer ve sekonder direnç oranları. *Solunum Hastalıkları* 1999; 10: 238-44.
5. Canetti G, Gossset J. *Techques et indication des Examens Bacteriologiques en Tb (Edition de Turalle) Paris, 1970.*
6. *Guidelines for the Management of Drug-Resistant Tuberculosis. 1997 WHO/TB/96.210(Rev 1).*
7. Mahmudi A, Iseman MD. Pitfalls in the care of patients with tuberculosis. Common errors and their association with the acquisition of drug resistance. *JAMA* 1993; 270: 65-8.
8. *Treatment of tuberculosis. Guidelines for National Programmes. WHO 1997.*
9. Sanders WE, Martwing C, Schneider N, et al. Activity of Amikasin against mycobacteria in vitro and in murine tuberculosis. *Tubercle* 1982; 63: 21.
10. Akalın H. *Klinik Uygulamada Antibiyotikler ve Diğer Antimikrobiyal İlaçlar. 1. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 1994: 154-62.*
11. Jacops RF. Multiple drug resistant tuberculosis. *Clinical Infectious Disease* 1994; 19: 1-10.
12. Acıcan T, Kaya A. Tüberkülozda direnç gelişme mekanizmaları. *Tüberküloz ve Toraks* 1998; 46: 12-7.
13. Alangaden GJ, Kreiswirt BN, Aocad A, et al. Mechanism of resistance to amikacin and kanamycin in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial agent and Chemotherapy* 1998; 42: 1295-7.
14. Iseman MD. Treatment multidrug resistant tuberculosis. *New Engl J Med* 1993: 784-91.
15. Gangadharam PRJ, Candler ER. In vitro antimycobacterial activity of some new aminoglycoside antibiotics. *Tubercle* 1997; 58: 35-8.
16. Seyfikli Z, Yener O, Ünsal M ve ark. Amikasinin *Mycobacterium tuberculosis* üzerine in vitro etkisi. *Tüberküloz ve Göğüs Hastalıkları Dergisi* 1993; 10: 1-4.
17. Hoffner SE, Kallenius G. Susceptibility of streptomycin resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains to amikacin. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1988; 7: 188-90.
18. Yener O, Seyfikli Z, Ünsal M ve ark. Kanamisinin *Mycobacterium tuberculosis* üzerine in vitro etkisi. *İzmir Göğüs Hastalıkları Dergisi* 1993; 7: 22-4.
19. Aysev D. Streptomisine dirençli *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının amikasin ve kanamisine direnç durumları. *Tüberküloz ve Toraks* 1992; 40: 17-20.
20. Allen BW, Mitchison DA. Amikasin in the treatment of pulmonary tuberculosis. *Tubercle* 1983; 64: 111-8.

Yazışma Adresi:

Dr. Fethiye ÖKTEN

Atatürk Göğüs Hastalıkları ve

Göğüs Cerrahisi Eğitim ve

Araştırma Hastanesi

Keçiören, ANKARA