



Adıyaman İlinde İzole Edilen Mycobacterium Tuberculosis Kompleksi Suşlarının İlaç Direnci Profilleri Ve Genotip Dağılımlarının Belirlenmesi

Determination of Drug Resistance Profiles and Genotype Distributions of Mycobacterium Tuberculosis Complex Strains Isolated in Adıyaman Province

  Gülnur Tarhan¹, Gülfer Yakıcı², Begüm Kayar³, Sadık Akgün¹, Fatih Köksal²

¹ Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

² Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

³ Gaziantep İslam Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

ORCID ID: Gülnur Tarhan, <https://orcid.org/0000-0002-1019-0798>, Gülfer Yakıcı, <https://orcid.org/0000-0001-6486-3209>, Begüm Kayar, <https://orcid.org/0000-0002-9657-5970>, Sadık Akgün, <https://orcid.org/0000-0002-1413-0450>, Fatih Köksal, <https://orcid.org/0000-0003-0790-1525>

***Sorumlu Yazar / Corresponding Author:** Prof. Dr. Gülnur Tarhan, e-posta / e-mail: gulnur.tarhan@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received: 20-11-2020

Kabul Tarihi / Accepted: 13-12-2020

Yayın Tarihi / Online Published: 31-12-2020

Atıf Gösterimi/How to Cite: Tarhan G., Yakıcı G., Kayar B., Akgün S., Köksal F. Adıyaman İlinde İzole edilen Mycobacterium tuberculosis kompleksi suşlarının ilaç direnci profilleri ve genotip dağılımlarının belirlenmesi, J Biotechnol and Strategic Health Res. 2020;4(3):314-319

*Bu çalışma Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TIPFMAP/2018-0001 nolu proje ile desteklenmiştir.

Özet

Amaç Tüberküloz (TB) tüm dünyada ciddi bir problem olmaya devam etmektedir. Türkiye hala TB insidansı orta derecede olan ülkeler arasında yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün 2019 yılı küresel verem raporuna göre, 2018 yılında Türkiye'de ki TB insidansı 100.000'de 18 dir. Bu raporda ülkemizde aynı yıldaki yeni ve yeniden tedavi edilen olguların çoklu ilaç direnci (ÇİD) oranı % 2,9 ve % 16 olarak bildirilmiştir. Adıyaman ilinde izole edilen Mycobacterium tuberculosis kompleksi (MTBK) suşlarına ait ilaç direnci profili ve genotip dağılımı hakkında veri bulunmamaktadır. Bu çalışma ilimizde izole edilen MTBK suşlarının direnç profili ve genotip dağılımının belirlenmesi amacı ile yapılmıştır.

Yöntem Adıyaman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tüberküloz Laboratuvarında Ocak 2015-Aralık 2016 tarihleri arasında izole edilen toplam 46 MTBK suşunun ilaç duyarlılık testi için BACTECTM MGITM 960 antiTB SİRE kiti kullanıldı. İzolatların genotiplenmesi, spoligotiplenme ve MIRU- VNTR yöntemleri ile yapıldı.

Bulgular Çalışmada incelenen 46 MTBK izolatu çoklu ilaca direnç oranı %6,52 olarak saptandı. 46 izolattın 37'sinde 6 spoligotip ailesi saptanmış olup, en fazla T ailesinde kümelenme olduğu tespit edildi. MIRU sonuçlarına göre güncellenmiş bir veri tabanında mevcut MIRU uluslararası türleri ile eşleşen 12 orphan ve 21 pattern tanımlandı.

Sonuç Tüm dünyada önemli halk sağlığı problemlerinden biri olan tüberkülozun kontrol altına alınmasında ve direncin en kısa sürede saptanmasında mikrobiyolojik çalışmaların önemi büyüktür. Tüberkülozun kontrol altına alınması ve direnç durumunun belirlenmesinde mutlaka ilaç duyarlılık testlerinin yapılması ve genotip düzeyindeki epidemiyolojik verilerin önemli bir yeri vardır.

Anahtar kelimeler Tüberküloz, Mikobakteri, Spoligotiplendirme, MIRU-VNTR

Abstract

Aim Tuberculosis continues to be a serious problem in the world. Turkey is still among the countries with moderate TB incidence. According to the 2019 World Health Organization (WHO) global TB report, in 2018 the incidence of TB in Turkey 18 cases per 100,000 people. Multi drug resistance rate of new and retreatment cases in 2013 was 0-2,9 % and 12-29,9 % in Turkey. There is no data on drug resistance profile and genotype distribution of Mycobacterium tuberculosis complex (MTBC) strains isolated in Adıyaman. There was no previous data for molecular epidemiology and drug resistance profile in Adıyaman province. This study was carried out to determine the resistance profile and genotype distribution of MTBK strains isolated in our city.

Methods Drug susceptibility testing of a total of 46 MTBK strains isolated in Adıyaman University Training and Research Hospital Mycobacteriology Laboratory between January 2015 and December 2016 was performed using the BACTECTM MGITM 960 TB drug sensitivity test SIRE kit. Isolates were genotyped by spoligotyping and MIRU-VNTR methods.

Results Susceptibility testing to streptomycin, isoniazid, rifampin and ethambutol was also performed by MGIT 960 system by using SIRE Kit. Multidrug resistance was found as 2.17% among 46 MTBK isolates. In 37 of 46 isolates, 6 spoligotype families were detected, and it was found that there was clustering in the T family the most. In a database updated according to MIRU results, 12 orphan and 21 patterns matching existing MIRU international types were identified.

Conclusion Microbiological studies are of great importance in controlling tuberculosis, which is one of the important public health problems all over the world, and determining resistance as soon as possible. Drug susceptibility tests and genotype epidemiological data have an important role in controlling tuberculosis and determining the resistance status.

Key words Tuberculosis, Mycobacteria, Spoligotyping, MIRU-VNTR

GİRİŞ

Tüberküloz (TB), her yıl yaklaşık 8 milyondan fazla yeni olgu ve 2 milyondan fazla ölüme neden olan en önemli bulaşıcı hastalıklardan biridir. Tanı ve tedavilerinin iyileştirilmesi ile TB epidemiyolojisinin daha iyi anlaşılması; TB salgınlarını kontrol etmek ve yenilerinin gelişmesini engellemek için çok önemli koşullardır¹. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2019 yılı küresel TB raporuna göre, 2018 yılında Türkiye'de ki TB insidansı 100.000'de 18 dir. Ülkemizde 2018 yılında yeni ve yeniden tedavi edilen olgular arasında çoklu ilaç direnci (ÇİD) oranı sırası ile % 2,9 ve % 16 olarak saptanmıştır². Moleküler epidemiyolojik incelemeler, geleneksel epidemiyolojik analizlere tamamlayıcı bir araç olarak giderek daha fazla kullanılmaktadır. Düzenli aralıklarla kümelenmiş kısa palindromik tekrar (CRISPR) lokusları, kümelenmiş Mycobacterium tuberculosis kompleksinin (MTBK) dünya çapındaki çeşitliliğini tanımlayan büyük "spoligotip" veri tabanları yayınlanmıştır ve MTBK 'nın yerel epidemiyolojik bulgularının küresel verileri ile karşılaştırılarak incelenmesine imkan sağlamıştır³⁻⁴.

Spoligotiplendirme ve 24 mycobacterial interspersed repetitive unit (MIRU)-variable-number tandem-repeat (VNTR) lokus analizinin birlikte kullanılması artık moleküler epidemiyolojide geleneksel IS6110-restriksiyon fragman uzunluğu polimorfizmi tekniğinin yerini almıştır⁵⁻⁷. Adıyaman ilinde moleküler epidemiyoloji ve ilaç direnci profiline ilişkin veri bulunmamaktadır. Bu çalışma, Adıyaman'da izole edilen MTBK izolatlarının spoligotiplendirme yöntemleri ve 24 lokuslu MIRU-VNTR ile genotiplendirme analizi yapılarak, moleküler epidemiyolojik profillerinin belirlenmesi ve bu modeller ile ÇİD-TB arasındaki olası bir ilişkinin analiz edilmesi amacı ile yapılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bakteri izolatları: Ocak 2015-Aralık 2016 tarihleri arasında Adıyaman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tüberküloz Laboratuvarında izole edilen toplam 46 MTBK

suşu çalışmaya dahil edildi. Her hastanın klinik örneğinden soyutlanan sadece bir izolat çalışıldı. Tüm izolatlar, spoligotiplendirme ve 24 mycobacterial interspersed repetitive units (MIRU) -variable-number tandem-tekrar (VNTR) yöntemi tiplemesi ile analiz edildi.

Bakteriyolojik işlemler ve ilaç duyarlılık testleri

Çalışmada incelenen bütün hastalara ait balgam örnekleri %4 NaOH-NALC yöntemine göre dekontaminasyon-homojenizasyon ve konsantrasyon(DHK) işleminde sonra BACTECTM MGITTM 960 TB kültür sisteminde çalışıldı. MGIT tüplerinde pozitif saptanan örneklerin BD MGIT™ TBC İdentifikasyon Testi ile MTBK doğrulaması yapıldıktan sonra; üretici firmanın önerileri doğrultusunda streptomisin,isoniazid,rifampisin ve etambutol için antibiyogram testleri BACTECTM MGITTM 960 TB ilaç duyarlılık testi SİRE kiti ile yapıldı⁸⁻⁹. Bu tüplerden aynı zamanda moleküler testler için Löwenstein Jensen (LJ) besiyerine alt kültürü yapılarak, belirgin koloniler oluşana kadar 37°C'de bekletildi. LJ besiyerinde üremiş kolonilerden steril distile su ile süspanسیون yapılarak moleküler testler için DNA izolasyonunda kullanıldı.

DNA izolasyonu

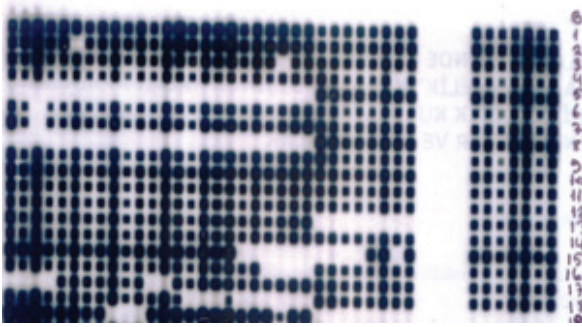
Bir öze dolusu bakteri kolonisi, 400 ul 1X TE (10 mM Tris, 1 mM EDTA pH: 8) içinde süspanse edildi ve 80°C'de 20 dakika inaktive edildi. Bakteriyel DNA, Mickle cihazında asitle yıkanmış mini cam boncuklar kullanılarak izole edildi.

Moleküler tiplendirme testleri

Spoligotiplendirme Isogen Bioscience kiti (Isogen Bioscience BV, Maarssen, The Netherlands) kiti kullanılarak, üretici firmanın önerdiği prosedürlere göre Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana tarafından çalışıldı.

DNA konsantrasyonu spektrofotometrik olarak ölçüldü. Hedef bölgedeki doğrudan tekrarlar arasındaki mesafeler, 5 ucta biotinlenmiş Dra ve DRb primerleri kullanılarak

amplifiye edildi. Amplifiye edilmiş DNA, ters çizgi blotlama ile *M. tuberculosis* H37Rv ve *M. bovis* BCG P3'ün spacer sekanslarından türetilen 43 immobilize edilmiş oligonükleotid setine hibridize edildi. Hibridize edici DNA'nın tespiti, geliştirilmiş kemilüminesans (ECL; Geliştirilmiş Kemo-Lüminesans Tespit kiti; Amersham, Little Chalfont, İngiltere) ve ardından üreticinin önerilerine uygun olarak X-ışını filmine (Hyperfilm ECL, Amersham) maruz bırakılarak yapıldı (Resim 1). *M. tuberculosis* H37Rv ve *M. bovis* BCG P3 Pasteur suşu, spoligotipleme için referans suşlar olarak kullanıldı. Spoligotiplendirme sonuçları ikili formatta Excel elektronik tabloları olarak girildi ve Pasteur de Guadeloupe Enstitüsü'nün Dünya Spoligotype Veritabanı (www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT_ONLINE) ile karşılaştırıldı¹⁰⁻¹⁴.



Resim 1 : MTBK izolatlarının spoligotipleme görüntüsü

MIRU-VNTR genotipleme, multipleks PCR, Rox etiketli MapMarker 1000 boyut standardı ve ABI 3100 ve ABI 3730-XL sekans cihazı kullanıldı. PCR fragmanlarının boyutlandırılması ve çeşitli VNTR allellerinin atanması, özelleştirilmiş GeneScan ve Genotyper veya Genemapper yazılım paketleri (PE Applied Biosystems) kullanılarak yapıldı. PCR karışımları, 96 oyuklu plaklar ve bir HotStart Taq DNA polimeraz kiti kullanıldı. PCR karışımı; 0.2 mM dNTP, PCR tamponu 2.5 mM MgCl₂, 0.3 M oligonükleotid ve 0.3 M işaretlenmiş oligonükleotid kullanılarak hazırlandı. Her çalışmada pozitif ve negatif kontrol kullanıldı. PCR reaksiyonu 95°C'de 15 dk ön denatürasyon işleminden sonra; 1 min at 94°C'e 1 dk, 59°C'de 1 dk ve 72°C'de 1 dk 30 sn 40 siklus olarak devam edildi. En

son aşamada reaksiyon 72°C'de 10 dk bekletilerek gerçekleştirildi. Tüm primer setleri için aynı reaksiyon şartları kullanıldı. Amplifikasyon işlemlerinde pozitif kontrol olarak *M. tuberculosis* H37Rv, negatif kontrol olarak distile su kullanıldı. Kümeler, özdeş kombine MIRU-VNTR ve spoligotiplendirme paternleri gösteren MTBK ile enfekte hasta grupları olarak tanımlandı¹⁵⁻¹⁶.

BULGULAR

Bu çalışmada laboratuvarımızda izole edilen MTBK birinci kuşak antitüberküloz ilaçlara (streptomisin, izoniazid, rifampisin, etambutol) karşı direnç sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1: 46 MTBK izolatının ilaç duyarlılık test sonuçları	
İlaçlar	Dirençli İzolatların Sayısı (%)
Streptomisin (S)	5(10.86)
İzoniazid (İ)	4(6.52)
Rifampisin (R)	4(6.52)
Etambutol(E)	2 (4.34)
S+I	0(0.0)
S+E	1 (2.17)
I+R	1 (2.17)
I+E	2 (4.34)
S+I+R	0(0.0)
I+R+E	0(0.0)
S+I+R+E	2 (4.34)
Toplam ÇİD	3(2.17)
Toplam	15(32.60)

Buna göre 46 izolatın 31'i (%67.39) 4 majör ilaca duyarlı, 15'i (% 32.60) en az bir ilaca dirençli bulunmuştur. Dirençli izolatlar arasında yapılan değerlendirmede; 15 izolat bir ilaca dirençli (%32.60) iken 4'ü iki ilaca (%8.69) idi. İncelenen izolatlar arasında üç ilaca direnç birlikte saptanmadı. 2 izolat 4 ilaca da dirençli (%4.34) bulundu. 46 MTBK izolatı içinde çoklu ilaca direnci % 2.17 olarak saptandı.

Spoligotiplendirme yönteminde 46 izolattan 37'sinde test için tanımlayıcı sonuç alındı. İncelenen 37 izolat arasında 6 spoligotip ailesi tespit edildi. Bu çalışmada Beijing aile-

sine rastlanmadı. Sonuçlarımız dünyadaki spoligotip veri bankası ile karşılaştırıldığında; 6 grup oluşturan 37 izolattan 23 izolat T1, 5 izolat LAM7TUR, 3 izolat LAM7, 3 izolat H3, 2 izolat EA15 ve 1 izolat Tcclade spoligotip ailesi içerisinde yer almıştır (Tablo 2).

Küme Düzeni	Küme Büyüklüğü	İzolatların Yüzdesi	Octal Kod	Spoligotip ailesi
A	5	13.51	777777404760771	LAM7-TUR
B	23	62.16	777777600760771	T1
C	3	8.10	747767777700771	H3
D	3	8.10	777777474760771	LAM7
E	1	2.70	777777637760771	Tcclade
F	2	5.40	547727737400771	EA15

MIRU sonuçlarına göre, güncellenmiş bir veri tabanında mevcut MIRU uluslararası tiplerle eşleşen 12 orphan ve 21 pattern saptanmıştır

TARTIŞMA

Tüberküloz insan sağlığını tehdit eden enfeksiyon hastalıklarının başında gelmektedir. Etkili tedavi ve kontrol önlemlerine rağmen, çoklu ilaca dirençli bakteri kökenlerinin ortaya çıkması ve bunların duyarlı popülasyonda yayılmaya başlaması hastalığın tedavisi ve kontrol altına alınmasında önemli problemlere neden olmaktadır. Tüberkülozun kontrol altına alınmasında etkenin mikrobiyolojik tanısı altın standarttır. Doğru ilaç tedavi programlarının uygulanması için ilaç duyarlılık testlerinin yapılması kritik önem taşımaktadır. Hastaların takip ve tedavisinin düzenlenmesinde; toplumdaki ilaç direnç oranlarının bilinmesi, buna ek olarak bireysel direnç durumunun saptanması önem taşımaktadır¹⁹⁻²⁰.

Moleküler testlerin epidemiyolojik amaçlı kullanılması ile birlikte özellikle toplumda dolaşan kökenlerin bilinmesi, bulaş kaynaklarının tahmin edilmesi bakımından önemli aşamalar kaydedilmiş olup, bu çalışmalar tüberküloz kontrol ve tedavisinde yeni programların geliştirilmesine katkı

sağlamıştır.

Çalışmamızda, ilimizde ettiğimiz 46 adet M.tuberculosis izolatının ilaç duyarlılık profili BACTECTM MGT TM 960 TB ilaç duyarlılık test ile belirlendi. İncelenen 46 izolatın 31'i (%67.39) dört ilaca (streptomisin, izoniazid, rifampisin, etambutol) duyarlı iken, 15'i (% 32.60) en az bir ilaca dirençli bulundu. Dirençli izolatlar arasında yapılan değerlendirmede; 15 izolat bir ilaca dirençli(%32.60) iken, 4'ü iki ilaca (%8.69)dirençli idi. İncelenen izolatlar arasında üç ilaca direnç birlikte saptanmadı. 2 izolat 4 ilaca da dirençli (%4.34) bulundu. İzoniazid ve rifampisine birlikte dirençli olarak 3 (%2.17) izolat ÇİD olarak tanımlandı. Türkiye çeşitli bölgelerden ve dispanserlerden yapılan çalışmaların analizinde, yeni hastalardan izole edilen tüberküloz basillerinde en az bir ilaca direnç oranının % 18-26, ÇİD MTB oranının % 1.3-4.8; tedavi görmüş hastaların izolatlarında en az bir ilaca direnç oranının % 28-53, ÇİD MTB oranının ise % 4-17 arasında dağılım gösterdiği belirlenmiştir²¹. Ülkemizde direnç durumunu yansıtan en kapsamlı çalışmalardan biri, 1984-1989 ve 1990-1995 yılları arasında yapılmış 21 çalışma ve 27.959 kökenin sonuçlarını kapsayan bir meta-analiz çalışmasıdır. Bu çalışmaya göre 1984-1989 yıllarında toplam direnç oranları sırasıyla, STR (% 22.5), RIF (% 22.3), INH (% 27.8) ve EMB (% 7.8) olarak verilirken, 1990-1995 yıllarında toplam direnç oranları sırasıyla, STR (% 17.9), RIF (% 22.1), INH (% 23.8) ve EMB (% 7.7) olarak belirtilmektedir²².

DSÖ'nün 2019 yılı küresel verem raporuna göre, 2018 yılında Türkiye'de ki tüberküloz insidansı 100.000'de 18 dir. 2018 yılında yeni ve yeniden tedavi edilen olguların çoklu ilaç direnci oranı Türkiye'den % 2,9 ve % 16 olarak belirlenmiştir².

2018 yılında yeni ve yeniden tedavi edilen olguların çoklu ilaç direnci oranı Türkiye'den % 2,9 ve % 16 olarak saptanmıştır. DSÖ'nün "Küresel Tüberküloz 2018 Raporu"na göre ise Türkiye için 2017 yılında yeni ÇİD olgu oranı %3,3 olarak belirtilmiştir²⁴. Çalışmamızın yapıldığı dönemde

Sağlık Bakanlığı'na yayınlanan "Türkiye'de Verem Savaşı 2017 Raporu"nda ülkemizdeki 2015 yılındaki direnç oranları INH için %11,8; RIF için %3,6; EMB için %3,6; SM için %10,3 olarak verilirken ÇİD-TB oranı %2,5 olarak verilmiştir. Bu verilerde en yüksek direnç oranına sahip olan birinci seçenek anti-TB ilaç INH olarak belirtilmiştir²⁵. Çalışmamızda tek başına INH %6.52 olarak saptandı. Çalışmamızdaki diğer birinci seçenek ilaç direnç oranları ile kıyaslandığında diğer çalışmalar ile uyumlu bulundu. Çalışmamızda ÇİD oranı %2.17 olarak bulunmuştur. ÇİD-TB saptanan 3 izolatın 2'sinin Çin, diğerinin Lübnan uyruklu hastalara ait olduğu belirlendi.

Tüberküloz çok bulaşıcı ve ilaç direnci yüksek bir hastalık olması nedeniyle daha iyi sürveyans programlarına ve hastalığın tanısının çok çabuk konulmasına gereksinim vardır. Suşlar arası epidemiyolojik açıdan coğrafik farklılıklar olduğu düşünülmektedir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda farklı coğrafik bölgelerden izole edilen suşların birbirini ile kıyaslanması ve bireysel suşların izlenebilmesi tüberkülozun tüm dünyada geçiş yolları, yüksek virülans ve ÇİD-TB'le ilişkili suşlar saptanabileceğini düşündürmektedir. Moleküler yöntemlerin rutin kullanıma girmesiyle birlikte epidemiyoloji çalışmaları kolaylaşmıştır. Bakteri suşlarının tiplendirilmesi, tüberküloz prevalansı ve yayılımı çalışılan en önemli konuları oluşturmaktadır. Spoligotiplendirme, MIRU ve IS6110 yöntemleri ile yapılan çalışmalarda *M.tuberculosis* izolatları duyarlı bir şekilde tiplendirilmektedir²⁵⁻³¹.

Bu çalışmalardan elde edilen veriler sayesinde epidemiyolojik kökene göre hızlı bir şekilde tedavi protokollerinin oluşturulması ve hastalığın kontrol altına alınması planlanmaktadır. Çalışmamızda laboratuvarımızda izole ettiğimiz 46 adet MTBK suşunun spoligotiplendirme ve 24 lokuslu MIRU yöntemleri ile epidemiyolojik kökenleri araştırıldı. 9 izolatta düşük DNA konsantrasyonu nedeni ile sonuç alınamadı. İncelenen 37 izolat arasında 6 spoligotip ailesi tespit edildi. Bu çalışmada Beijing ailesine rastlanmadı. Sonuçlarımız dünyadaki spoligotip veri ban-

kası ile karşılaştırıldığında 6 grup oluşturan 37 izolatın 23 izolat T1, 5 izolat LAM7TUR, 3 izolat LAM7, 3 izolat H3, 2 izolat EA15 ve 1 izolat TcIade spoligotip ailesi içerisinde yer almıştır. Değerlendirmeye aldığımız 37 izolat içerisinde T1 suşlarının %62,16 oranı ile en sık karşılaşılan aileyi oluşturdukları ve SpolDB4 database de bu ailenin 3 alt tipinin olduğu görülmüştür. MIRU sonuçlarına göre, güncellenmiş bir veri tabanında mevcut MIRU uluslararası tiplerle eşleşen 12 orphan ve 21 pattern saptanmıştır. Zeytinli ve ark.nın Çukurova bölgesinde ve Güneydoğu Anadolu bölgesini de içine alan geniş kapsamlı çalışmalarında tüberküloz tanısı amacı ile Adana ilindeki bölge tüberküloz laboratuvarına gönderilen akciğer tüberkülozlu hastalara ait örneklerden üretilen 467 MTBK izolatları ile yaptıkları çalışmada; spoligotiplendirme yöntemiyle 467 izolatta bölgede en yaygın görülen ailenin T1 ailesi olduğu (%51.9) ve bunu LAM7 TUR ailesinin (%11.5) izlediği belirtilmiştir. Spoligotiplendirme yöntemiyle değerlendirilen suşlar arasında, bölgede T1 ailesinin daha baskın olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuç bölge verileri ile uyumluluk göstermiştir³².

Sonuç olarak, tüm dünyada önemli halk sağlığı problemlerinden biri olan tüberkülozun kontrol altına alınmasında ve direncin en kısa sürede saptanmasında mikrobiyolojik çalışmaların önemi büyüktür. Doğru tedavi protokollerinin oluşturulmasında mutlaka ilaç duyarlılık testlerinin yapılması ve genotip düzeyindeki epidemiyolojik verilerin enfeksiyon kaynağının tanımlanması ve kontrol önlemlerinin alınmasında önemli olduğu düşüncesindeyiz.

Kaynaklar

1. Türkiye'de Verem Savaş Raporu 2018. <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/tuberkuloz-haberler/turkiye-de-verem-savas-2019-raporu.html>.
2. WHO. Global tuberculosis report 2019. Geneva: World Health Organization, 2020. https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/.
3. Mathema B, Kurepina NE, Bifani PJ, Kreiswirth BN. Molecular epidemiology of tuberculosis: Current insights. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:658-685.
4. Kanduma, E., T. D. McHugh, and S. H. Gillespie. Molecular methods for Mycobacterium tuberculosis strain typing: a user's guide. *J. Appl. Microbiol.* 2003;94:781-791.
5. Peterson R. Molecular Epidemiology of Tuberculosis. Karolinska Institutet, Sweden, 2009.
6. Durmaz, R. Tüberkülozün Epidemiyolojik Araştırmalarında Laboratuvarın Yeri. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu. 11-12 Haziran, Samsun, 2003; 443-456.
7. Rodriguez NA. et al. Evaluation of the new advanced 15-loci MIRU-VNTR genotyping tool in Mycobacterium tuberculosis molecular epidemiology studies. *BMC Microbiology* 2008; 8: 34.
8. Kubica G. P. W, Dye E, Cohn M. L, Middlebrook G: Sputum digestion and decontamination with N-acetyl-L-cysteine-sodiumhydroxide for culture of mycobacteria. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1993; 87:775-780.
9. Becton Dickinson. MGIT For BACTEC™ MGIT 960™ TB System. 2006.
10. Roring S, Brittain D, Bunschoten AE, Hughes MS, Skuce RA, van Embden JD, et al. Spacer oligotyping of Mycobacterium bovis isolates compared to typing by restriction fragment length polymorphism using PGRS, DR and IS6110 probes. *Vet Microbiol.* 1998;61: 111-120. 10.1016/S0378-1135(98)00178-183.
11. www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/sitvt_online.
12. www.isogen-lifescience.com.
13. Brudey K, Driscoll JR, Rigouts L, Prodinger WM, Gori A, Al-Hajj SA. Mycobacterium tuberculosis complex genetic diversity: mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology. *BMC Microbiology.* 2006;6:23.
14. Sola C, Horgen L, Maisetti J, Devallois A, Goh KS, Rastogi N. Spoligotyping followed by double-repetitive-element PCR as rapid alternative to IS6110 fingerprinting for epidemiological studies of tuberculosis. *J Clin Microbiol.* 1998;36:1122-1124
15. Smittipat N. Three-year population-based evaluation of standardized Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variation Number of Tandem Repeat typing of Mycobacterium tuberculosis. *JCM.* 2005; 43:5034-5043.
16. Skuce RA, McCorry TP, McCarroll JF, Roring SM, Scott AN, Brittain D, Hughes S, R. Hewinson G, Neill S. Discrimination of Mycobacterium tuberculosis complex bacteria using novel VNTR-PCR targets. *Microbiology,* 2002; 148: 519-528.
17. Keshavjee S, Farmer PE. Tuberculosis, drug resistance, and the history of modern medicine. *New Engl J Med* 2012; 367: 931-936.
18. World Health Organization. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis—2011 update. Available at: [HTTP://WHO.LIBDOCS.WHO.INT/PUBLICATIONS/2011/9789241501583_ENG.PDF](http://WHO.LIBDOCS.WHO.INT/PUBLICATIONS/2011/9789241501583_ENG.PDF).
19. Jain A, Dixit P. Multidrug-resistant to extensively drug resistant tuberculosis: what is next? *J Biosci* 2008;33(4): 605-616.
20. Dheda K, Gumbo T, Maartens G, et al. The epidemiology, pathogenesis, transmission, diagnosis, and management of multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and incurable tuberculosis. *Lancet Respir Med* 2017; 5: 291-360.
21. Durmaz R. Mycobacterium tuberculosis'de Direnç Sorunu. *ANKEM Dergisi.* 2005; 19 (2): 107-110.
22. Baylan O. Extensively Drug Resistant and Extremely Drug Resistant Tuberculosis Forms After Multi-Drug Resistant Tuberculosis: New Faces of the Old Disease derleme 2009. Türkiye Klinikleri.
23. Yolsal N, Malat G, Dişci R, Örkün M, Kılıçaslan Z. Türkiye'de Tüberküloz İlaçlarına Direnç Sorununun 1984-1989 ve 1990-1995 Yılları İçin Karşılaştırılması; Meta-Analiz. *Klinik Dergisi.* 1998; 11(1): 6-9.
24. WHO. Global tuberculosis report 2018. Geneva: World Health Organization, https://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr2018_main_text_28Feb2019.pdf?ua%20=%201
25. Türkiye'de Verem Savaş Raporu 2017. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/haberler/verem-savas-raporu-2016-2017/Turkiyede_Verem_Savasi_2017_Raporu.pdf
26. Basil MV, Nair D. Molecular epidemiology of tuberculosis: Opportunities & challenges in disease control. *Indian J Med Res.* 2017; 146(1): 11-14.
27. van Soolingen D, Hermans PW, de Haas PE, Soll DR, van Embden JD. Occurrence and stability of insertion sequences in Mycobacterium tuberculosis complex strains: evaluation of an insertion sequence-dependent DNA polymorphism as a tool in the epidemiology of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1991;29: 2578-2586.
28. Kamerbeek J, Schouls L, Kolk A, van Agterveld M, van Soolingen D, et al. Simultaneous detection and strain differentiation of Mycobacterium tuberculosis for diagnosis and epidemiology. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 907-914.
29. Zozio T, Allix C, Gunal S, Saribas Z, Alp A, Durmaz R, Fauville M, Rastogi, N. Sola, C. Genotyping of Mycobacterium tuberculosis Clinical Isolates in Two Cities of Turkey: Description of a New Family of Genotypes That is Phylogeographically Specific for Asia Minor. *BMC Microbiology,* 2005; 5-44.
30. Durmaz R, Zozio T, Gunal S, Allix C, Dufaux MF, Rastogi N. Population-Based Molecular Epidemiological Study of Tuberculosis in Malatya, Turkey. *Journal of Clinical Microbiology,* December 2007, p. 4027-4035, Vol. 45.
31. Gencer B, Shinnick TM. Molecular Genotyping of Mycobacterium tuberculosis Isolates from Turkey. *Am. J Infect Dis,* 2005;(1), 5-11.