

Çukurova Bölgesinde Akciğer Tüberkülozlu Hastalardan İzole Edilen *Mycobacterium tuberculosis* Suşlarının Spoligotiplendirme ve MIRU-VNTR Yöntemiyle Tiplendirilmesi

Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* Strains Isolated from Pulmonary Tuberculosis Patients in Cukurova Region, Turkey by Spoligotyping and MIRU-VNTR Methods

Ülkü ORAL ZEYTİNLİ, Fatih KÖKSAL

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana.
Cukurova University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Adana, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 14.08.2011 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 13.12.2011

ÖZET

Halk sağlığı açısından büyük önem taşıyan tüberkülozun toplum içerisindeki hızlı yayılımının nedenlerinin anlaşılması ve daha etkili kontrol önlemlerinin geliştirilebilmesi için moleküler bazlı epidemiyolojik yöntemlerin yaygınlaşması gerekmektedir. Dünyada son yıllarda tüberkülozun moleküler epidemiyolojisiyle ilgili çalışmalarda hızlı artışa karşın, ülkemizde *Mycobacterium tuberculosis*'in epidemiyolojik özelliklerini tespitiye yönelik yapılan araştırmalar sınırlıdır. Çukurova bölgesi, güneydoğu komşuluğu ve bu komşuluğuna bağlı olarak aldığı göçlerden dolayı oldukça kritik öneme sahip bir bölgedir. Bu çalışmada, bölgedeki *M.tuberculosis* klinik izolatlarının genotip düzeyinde tanımlanması amaçlanmıştır. Çalışmaya, Ocak 2007-Haziran 2010 tarihleri arasında Çukurova bölgesinde bulunan yedi ildeki (Adana, Mersin, Osmaniye, Antakya, Gaziantep, Şanlıurfa, Kahramanmaraş) 17 Verem Savaş Dispanseri, bir göğüs hastalıkları hastanesi ve iki devlet hastanesinden, Adana Bölge Tüberküloz Laboratuvarına gönderilen, akciğer tüberkülozlu hastalara ait örneklerden (balgam, bronkoalveoler lavaj ve biyopsi materyali) MGIT 960TB (BD Diagnostics, ABD) sistemiyle izole edilen ve *M.tuberculosis* kompleks olarak tanımlanan 467 suş dahil edilmiştir. İzolatların her birine spoligotiplendirme ve 12 lokus MIRU-VNTR (Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable Number Tandem Repeats) yöntemi uygulanmıştır. Spoligotiplendirme yöntemiyle 467 izolatın 443 (%94.9)'ünün 21 küme içerisinde yoğunlaştığı, 24 (%5.1)'ünün ise SpolDB4 veri bankasındaki bilinen hiçbir kümeye uymayan (orphan) suşlar olduğu belirlenmiştir. Bölgede en yaygın görülen ailenin 239 (%51.9) izolat ile T1 ailesi olduğu, bunu 54 (%11.5) izolat ile LAM7 TUR ailesinin iz-

İletişim (Correspondence): Uzm. Dr. Ülkü Oral Zeytinli, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 01330 Balcalı, Adana, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 322 338 6046, **E-posta (E-mail):** zy.ulku@hotmail.com

lediği, sadece Şanlıurfa ilinden izole edilen suşlardan 6 (%1.3)'sının Beijing ailesine ait çok ilaca dirençli izolatlar olduğu tespit edilmiştir. Spoligotiplendirme yöntemi sonucunda en fazla üyeye sahip olan T1 ailesine ait 239 suş, 12 lokus MIRU-VNTR yöntemi kombinasyonu sonucunda, üye sayıları 2-158 arasında değişen yedi alt kümeye ayrılmış, 21 izolat ise özgün (unique) karakter göstermiştir. Spoligotiplendirme yöntemiyle değerlendirilen suşlar arasında, bölgemizde T1 ailesinin daha yaygın olduğu görülmüştür. *M.tuberculosis* Beijing suşu prevalansı %1.3 olarak tespit edilmiş, bu suşların tamamı Şanlıurfa bölgesindeki hastalara ait örneklerden izole edilmiştir. Sonuç olarak, aktif süreyans çalışmalarıyla bu suşların bölge hareketlerinin izlenmesi ve yayılımlarının engellenmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: *Mycobacterium tuberculosis*; spoligotiplendirme; MIRU-VNTR; moleküler epidemiyoloji; Çukurova bölgesi.

ABSTRACT

More rapid, and specific molecular diagnostic methods are required to understand the epidemiology of tuberculosis in the population and to establish effective control measures. Molecular epidemiologic studies about *Mycobacterium tuberculosis* are yet limited in Turkey. Cukurova (Eastern Mediterranean part of Turkey) region is of special importance in terms of tuberculosis epidemiology due to its neighbourhood countries and relatively high number of immigrants to that area. This study was aimed to determine the genotypic characteristics of *M.tuberculosis* strains isolated from pulmonary tuberculosis patients in Cukurova region, by spoligotyping and 12 loci MIRU-VNTR (Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable Number Tandem Repeats) methods. A total of 467 *M.tuberculosis* strains isolated from patients with pulmonary tuberculosis admitted to 20 hospital/dispensary in seven different provinces (Adana, Mersin, Osmaniye, Antakya, Gaziantep, Sanliurfa, Kahramanmaraş) at Cukurova region between January 2007-June 2010, were included to the study. Genotypic identification was done by spoligotyping and 12 loci MIRU-VNTR methods. *M.tuberculosis* complex strains were isolated from different samples (sputum, bronchoalveolar lavage and biopsy material) by MGIT 960-TB (BD Diagnostics, USA) liquid culture method in Regional Tuberculosis Laboratory. Spoligotyping analysis revealed that 443 (94.9%) of the strains were clustered in 21 groups while 24 (5.1%) of the isolates were described as orphan strains according to SpolDB4 database. The most common families were T1 genotype seen in 239 (51.9%) strains and LAM7 TUR genotype seen in 54 (11.5%) strains. Six (1.3%) strains isolated from one province were multidrug resistant strains and belonged to Beijing family. Combination of spoligotyping with 12-locus MIRU-VNTR divided the T1 family into 7 clusters of which members ranged from 2-158. Twenty one isolates showed unique pattern. According to this study, T1 family is the most common genotype among *M.tuberculosis* strains in Cukurova, Turkey and the prevalence of *M.tuberculosis* Beijing strains was 1.3%, detected only in one province (Sanliurfa). Active surveillance studies are necessary to follow the regional dissemination of *M.tuberculosis* genotypes and establish effective precautions to prevent the spread of especially drug resistant strains.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*; spoligotyping; MIRU-VNTR; molecular epidemiology; Turkey.

GİRİŞ

Tüberküloz, insanlık tarihi kadar eski kronik, nekrozitan bir hastalıktır. Pulmoner tüberküloza bağlı ölümlerin ve bulaşın azaltılmasında, tüberkülozun toplum içerisindeki hızlı yayılımını, bulaşta rol oynayan dinamikleri ve reenfeksiyon ile reaktivasyon arasındaki farkı gösteren epidemiyolojik özelliklerinin bilinmesi önemli rol oynar¹. Moleküler süreyans çalışmaları, *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTC) içinde yer alan farklı tür ve genotiplerinin dünyada farklı coğrafi bölgelerde görülme sıklıkları ve bulaş yollarının tes-

pitine, korunma ve kontrole yönelik stratejilerin geliştirilebilmesine ve mevcut kontrol programlarının başarısının ölçülebilmesine imkan sağlamaktadır². MTC türlerinin moleküler düzeyde sürveyansında; DNA hibridizasyon yöntemi, IS6110-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) spoligotiplendirme ve 12-15-24 lokus MIRU-VNTR (Mycobacterial Interspersed Repetitive Units-Variable Number of Tandem Repeat) yöntemlerinin kombinasyonları kullanılmıştır. Spoligotiplendirme, tüberküloz için en yaygın kullanılan epidemiyolojik yöntem olup, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) bazlı ters dot blot hibridizasyon esasına dayanmaktadır³. Klinik laboratuvarlarda, moleküler epidemiyoloji, evrim ve popülasyon genetiği ile ilgili araştırmalarda kullanılır. MIRU-VNTR tiplendirme yöntemi ise, yüksek ayırım gücü, laboratuvarlar arası tekrarlanabilirliği ve uluslararası kabul görmüş standardizasyonu ile MTC klonlarının epidemiyolojik özelliklerinin tespitinde kullanılan en hızlı yöntemdir. *M.tuberculosis* genomunda büyüklükleri 50-100 baz çifti (bc) arasında değişen 41 farklı VNTR tanımlanmış ve bunlara MIRU adı verilmiştir. MIRU-VNTR yönteminin *M.tuberculosis* suşlarının sürveyansında referans yöntem olması önerilmektedir. Ancak Beijing genotipinin ayırımında yetersiz olup spoligotiplendirme gibi diğer bir tiplendirme yöntemiyle kombinasyonu gerekmektedir².

Bu çalışmanın amacı, Çukurova bölgesinde bulunan *M.tuberculosis* klinik izolatlarının genotip düzeyinde tanımlanmasıdır.

GEREÇ ve YÖNTEM

İzolatlar

Bu çalışmada; Çukurova bölgesinde yer alan yedi ildeki (Adana, Mersin, Osmaniye, Antakya, Gaziantep, Şanlıurfa, Kahramanmaraş) verem savaş dispanserleri ve göğüs hastalıkları hastanelerinde pulmoner tüberküloz tanısıyla takip edilen hastalardan MGIT 960TB (BD Diagnostics, ABD) yöntemiyle izole edilen 467 *M.tuberculosis* izolat, moleküler epidemiyolojik özellikleri için 12 lokus MIRU-VNTR ve spoligotiplendirme yöntemlerinin kombinasyonuyla değerlendirildi.

DNA Ekstraksiyonu

Middlebrook 7H9 sıvı besiyerinde izole edilen *M.tuberculosis* suşlarının DNA'sı Mickle cihazı (Mickle tissue disintegrator) kullanarak ekstrakte edildi. Ekstraksiyon sonrası elde edilen DNA miktarı spektrofotometre (CHEBIOS) ile 260 nm'de ölçülerek belirlendi. DNA ekstraktları -20°C'de saklandı. Her bir izolata spoligotiplendirme ve 12 lokus MIRU-VNTR yöntemi uygulandı.

Spoligotiplendirme

Spoligotiplendirme yöntemi, üretici firmanın önerileri (Isogen Bioscience BV, Hollanda) dikkate alınarak uygulandı. DR bölgelerini hedef alan DRa: 5'-GGT TTT GGG TCT GAC GAC-3' (5'-ucundan biyotin ile işaretli) ve DRb: 5'-CCG AGA GGG GAC GGA AAC-3' primerleri sentezletildi. Her çalışmada *M.tuberculosis* H37Rv, *Mycobacterium bovis* BCG veya genotipi bilinen klinik izolat pozitif kontrol ve dH₂O negatif kontrol olarak kullanıldı. Master miks 12.5 µl 2x PCR karışımı (Fermentas) [4 mM MgCl₂, 1.6 mM dNTP karı-

şımı (her bir dNTP'den 0.4 mM), 0.05 u/µl Taq DNA polimeraz içermektedir], 0.25 µl DRa (25 pmol/µl), 0.25 µl DRb (25 pmol/µl), 2.50 µl kalıp DNA ve 9.5 µl dH₂O kullanılarak hazırlandı. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) karışımı içeren tüpler ısı döngü cihazına (Applied Biosystem, AB) yerleştirilerek 95°C'de beş dakika ilk denatürasyonu takiben, 94°C'de bir dakika, 55°C'de bir dakika, 72°C'de 45 saniye 40 siklus, 72°C'de 10 dakika, 4°C'de ∞ programında çalıştırıldı. Sonuçlar 0-7 arasında 15 rakamdan oluşan oktal kod formatına çevrildi. Elde edilen veriler SpolDB4 veri tabanı kullanılarak kümeler ve aileler belirlendi.

MIRU-VNTR

12 lokus MIRU-VNTR (lokus: 02, 04, 10, 16, 20, 23, 24, 26, 27, 31, 39, 40) yöntemi kullanıldı. Hedeflenen MIRU lokusları için Tablo I'de belirtilen primerler sentezlendi. PCR reaksiyon karışımı; DMSO (Sigma) 0.250 µl, 2X PCR karışımı (Fermentas) 3.125 µl [4

Tablo I. 12 Lokus MIRU VNTR Yöntemi İçin Kullanılan Primerler

Hedef bölge	PCR primer (5' → 3')
MIRU 2a	5'-TGG ACT TGC AGC AAT GGA CCA ACT-3'
MIRU 2b	5'-TAC TCG GAC GCC GGC TCA AAA T-3'
MIRU 4a	5'-GCG CGA GAG CCC GAA CTG C-3'
MIRU 4b	5'-GCG CAG CAG AAA CGT CAG C-3'
MIRU 10a	5'-GTT CTT GAC CAA CTG CAG TCG TCC-3'
MIRU 10b	5'-GCC ACC TTG GTG ATC AGC TAC CT-3'
MIRU 16a	5'-TCG GTG ATC GGG TCC AGT CCA AGT A-3'
MIRU 16b	5'-CCC GTC GTG CAG CCC TGG TAC-3'
MIRU 20a	5'-TCG GAG AGA TGC CCT TCG AGT TAG-3'
MIRU 20b	5'-GGA GAC CGC GAC CAG GTA CTT GTA-3'
MIRU 23a	5'-CAG CGA AAC GAA CTG TGC TAT CAC-3'
MIRU 23b	5'-CGT GTC CGA GCA GAA AAG GGT AT-3'
MIRU 24a	5'-CGA CCA AGA TGT GCA GGA ATA CAT-3'
MIRU 24b	5'-GGG CGA GTT GAG CTC ACA GAA-3'
MIRU 26a	5'-CCC GCC TTC GAA ACG TCG CT-3'
MIRU 26b	5'-TGG ACA TAG GCG ACC AGG CGA ATA-3'
MIRU 27a	5'-TCG AAA GCC TCT GCG TGC CAG TAA-3'
MIRU 27b	5'-GCG ATG TGA GCG TGC CAC TCA A-3'
MIRU 31a	5'-ACT gAT TGG CTT CAT ACG GCT TTA-3'
MIRU 31b	5'-GTG CCG ACG TGG TCT TGA T-3'
MIRU 39a	5'-CGC ATC GAC AAA CTG GAG CCA AAC-3'
MIRU 39b	5'-CGG AAA CGT CTA CGC CCC ACA CAT-3'
MIRU 40a	5'-GGG TTG CTG GAT GAC AAC GTG T-3'
MIRU 40b	5'-GGG TGA TCT CGG CGA AAT CAG ATA-3'

mM MgCl₂, 1.6 mM dNTP mix (her bir dNTP'den 0.4 mM), 0.05 u/μl Taq DNA polimeraz içermektedir], "forward" primer 0.040 μl, "reverse" primer 0.040 μl, DNA 0.625 μl ve dH₂O 2.170 μl, toplam 6.250 μl olacak şekilde hazırlandı. Hazırlanan reaksiyon karışımı ısı döngü cihazında 94°C'de beş dakika ilk denatürasyonu takiben, 95°C'de 30 saniye 62°C'de 60 saniye, 72°C'de 90 saniye 40 siklus, 72°C'de 10 dakika, 4°C'de ∞ programında amplifiye edildi. Amplikonlar, 120 voltta, 60 dakika, etidyum bromürlü %2'lik agaroz jel elektroforeze tabi tutuldu ve elektroforez sonrası jel görüntüleme sistemiyle (QUANTUM-ST4 3020-WL/BLUE/20M) görüntülendi. Bant büyüklüğünün tespitinde 50-1000 bç'lik belirteç (Fermentas, CA) kullanıldı^{4,5}.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen toplam 467 izolatın 443 (%88)'ünün 21 spoligotiplendirme kümesi içerisinde yoğunlaştığı, en büyük kümeyi 239 üyeye sahip T1 ailesinin oluşturduğu saptanmıştır (Resim 1) (Tablo II). İzolatların aile içerisi dağılımlarının illerde değerlendirilmesi sonunda; Adana dahil üç büyük merkezde T1 ailesinin baskın olduğu, bunu LAM7 TUR ailesinin izlediği görülmüştür. *M.tuberculosis* Beijing ailesine ait izolatların çok ilaca dirençli suşlar olduğu, Şanlıurfa ile sınırlı kaldığı izlenmiştir.

Çalışılan 467 MTC suşunda, 12 lokus MIRU-VNTR ve spoligotiplendirme yöntemlerinin kombinasyonu sonucunda 21 spoligotiplendirme kümesinin alt kümelere ayrıldığı görülmüştür. Spoligotiplendirme yöntemi sonucunda en fazla üyeye sahip olan T1 ailesine ait 239 suş, 12 lokus MIRU-VNTR kombinasyonu ile üye sayıları 2-158 arasında değişen yedi alt kümeye ayrılmış, 21 izolat ise özgün (unique) karakter göstermiştir (Tablo III). İkinci büyük küme olan LAM7 TUR ailesine ait 54 izolatın altısı MIRU-VNTR kombinasyonunda özgün profil sergilerken, kalan 48 suş üye sayıları 3-29 arasında değişen beş kümede toplanmıştır.



Resim 1. Spoligotiplendirme görüntüsü.

Tablo II. *Mycobacterium tuberculosis* Suşlarının Spoligotip Aileleri ve Sıklıkları

Spoligotip ailesi	Suş sayısı (%)
T1	239 (51.2)
LAM7 TUR	54 (11.5)
EAI5/EAI3	23 (4.9)
H3	22 (4.7)
MANU1	21 (4.5)
H4	10 (2.1)
U	8 (1.7)
MANU2	8 (1.7)
LAM3/S	8 (1.7)
T3	7 (1.5)
H1	7 (1.5)
EAI5	6 (1.3)
Beijing	6 (1.3)
T2	5 (1.1)
LAM9	4 (0.9)
CAS1-Delhi	3 (0.6)
H2	3 (0.6)
LAM3	2 (0.4)
X3	2 (0.4)
BOV	2 (0.4)
Bovis 1	2 (0.4)
X1	1 (0.2)
Özgün (Unique)	24 (5.1)
Toplam	467 (100)

TARTIŞMA

Tüberküloz, dünyada AIDS'ten sonra erişkinlerde en sık ölüme neden olan ikinci enfeksiyon hastalığıdır. Özellikle son 30 yıldır; düşük sosyoekonomik durum, göçler, HIV/AIDS pandemisi ve savaşlar birçok gelişmiş ülkede tüberküloz insidansında artışa neden olmuştur. *M.tuberculosis* epidemiyolojisinde diğer bir önemli durum, dünyada Beijing suşları gibi çok ilaca dirençli izolatların insidansında artıştır. Bu nedenle yüksek ayırım gücüne sahip moleküler yöntemlerle sürveyans çalışmaları, riskli bölgelerde tüberküloz kontrol stratejisinde oldukça önemlidir^{6,7}. Bu çalışma bölgemizde *M.tuberculosis* için yapılan ilk moleküler epidemiyolojik çalışma olmasından dolayı, kontrol programlarında kritik ve önemli role sahiptir. Ülkemizde *M.tuberculosis*'in moleküler epidemiyolojisi ile ilgili çalışmalar sınırlı olmakla birlikte, *M.tuberculosis* Beijing suşlarının giderek artan oranlarda görülmeye başlandığı bildirilmektedir⁸⁻¹⁰. Zozio ve arkadaşları⁸, Ankara ve Malatya bölgesine ait 245 *M.tuberculosis* klinik izolatını değerlendirdikleri çalışmalarında, spoligo-

Tablo III. Spoligotip T1 Ailesine Ait 239 İzolatın 12 Lokus MIRU-VNTR Profili

Suş no	Yer	Spoligotiplendirme	Oktal kod	Aile	MIRU-VNTR
158	Adana	77777777760771	T1	223423153322
50	Antakya	77777777760771	T1	223326153322
2	Adana	37777777760771	T1	223423153322
2	Antakya	77777777760771	T1	223423153322
2	Adana	03763777760771	T1	223326153322
2	Adana	77777776360771	T1	223326153322
2	Adana	77777777760771	T1	223225153321
1	Mersin	77777777760771	T1	223321153322
1	Adana	77777777560771	T1	223326133322
1	Antakya	37777777760771	T1	223323153322
1	Antakya	77776377760771	T1	223323121322
1	Şanlıurfa	77777777760771	T1	223326112322
1	Gaziantep	77777777760771	T1	223223155322
1	Antakya	77777677760771	T1	223312153312
1	Antakya	77377777760771	T1	223326151132
1	Adana	77777404760771	T1	223125133324
1	Antakya	77777777760771	T1	223326153322
1	Adana	77777777760771	T1	223225153321
1	Osmaniye	77777777760771	T1	223121153321
1	Şanlıurfa	03763777760771	T1	223215153321
1	Kahramanmaraş	77777777760771	T1	223224153321
1	Antakya	77377777760771	T1	213326151132
1	Adana	77777404760771	T1	221125133324
1	Antakya	77777777760771	T1	223116153322
1	Adana	77777777760771	T1	223225115331
1	Osmaniye	77777777760771	T1	223121153222
1	Şanlıurfa	03763777760771	T1	223217253321
1	Kahramanmaraş	77777777760771	T1	223224343321

tiplendirme yöntemiyle 206 izolatın 33 kümede toplandığını, 39 izolatın ise tek üyeli özel kümeler içerisinde yer aldıklarını belirterek, en büyük kümeyi %21 oranında LAM7 TUR ailesinin oluşturduğunu, bunu sırasıyla %16.3 oranıyla T1 ve %5.3 oranıyla Haarlem 3 ailelerine ait kümelerin izlediğini bildirmişlerdir. Günel'in⁹ çalışmasında, Malatya'da 450 *M. tuberculosis* izolatı değerlendirilmiş; T ailesinin %38.6 ile bölgede en sık karşılaşılan aile olduğu, bunu %27.3 oranıyla LAM7 TUR ve %14.8 oranıyla Haarlem ailelerine ait suşların izlediği bildirilmiştir. Bu araştırmacı ayrıca, Beijing genotipinden dört ve Hindistan'ın Delhi bölgesine özgü CAS1-Delhi genotipinden iki suş tespit ettiğini rapor

etmiştir⁹. Köksalan ve arkadaşlarının¹⁰, spoligotiplendirme ve 12 lokus MIRU-VNTR yöntemi kombinasyonunu uygulayarak 4069 izolatı değerlendirdikleri bir çalışmada, İstanbul bölgesinde Beijing ailesine ait genotiplerin sıklığı %1.1 olarak tespit edilmiştir.

Bulgaristan'da 2008 yılında yapılan bir çalışmada, 113 *M.tuberculosis* izolatı spoligotiplendirme ve MIRU-VNTR yöntemiyle genotipik özellikleri yönünden incelenmiş; 2-29 suş içeren 15 spoligotiplendirme kümesi ve beş özgün izolat tanımlanmış ve en büyük kümenin %25.7'lik oranla T1 ailesine ait olduğu, LAM7 TUR ailesinin %5.4 oranıyla ikinci sırada yer aldığı ifade edilmiştir¹¹. LAM7 TUR prevalansını, dünya ortalamaları üzerinde bulmuş olmalarını, ülkenin Türkiye ile komşuluğuna bağlayan araştırmacılar, *M.tuberculosis* genotiplerinin yayılımında göçlerin önemine dikkat çekmişlerdir¹¹. Gencer ve Shinnick¹² 2005 yılında İran ve komşu ülkelerinde bulunan *M.tuberculosis* suşlarının spoligotiplendirme paternlerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, İran ve Afgan tüberküloz hastalarına ait örneklerden 1742 *M.tuberculosis* suşu izole etmişler ve sonuçları Türkiye ve Pakistan ile karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, en sık T, CAS, EAI ve LAM ailelerini saptadıklarını ifade etmişler; İran (%32.3) ve Türkiye'de (%36.5) T ailesinin; Pakistan (%61.3) ve Afganistan'da (%27.4) CAS ailesinin baskın olduğunu belirlemişler ve 7 (%1.8) suşun Beijing genotipine ait olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada ayrıca, Pakistan ve Afganistan'da bulunan suşların çoğunluğunun atasal suşlara, Türkiye'de bulunanların modern tüberküloz suşlarına ait olduğu; İran'da ise atasal ve modern tüberküloz suşlarının eşit oranda görüldüğü vurgulanmıştır¹².

Nieman ve arkadaşları⁴ 2010 yılında Gürcistan'da Beijing suşlarının yayılımını araştırdıkları çalışmada, spoligotiplendirme yöntemiyle 183 *M.tuberculosis* izolatını incelemişler ve suşların %26'sının Beijing, %18'inin LAM, %12'sinin Ural, %5'inin de Haarlem ailelerine ait olduğunu göstermişlerdir⁴. Otlu ve arkadaşlarının¹³ çalışmasında, dört yıldan uzun sürede ülkemizin doğu bölgesinde izole edilen 220 *M.tuberculosis* suşu spoligotiplendirme yöntemiyle değerlendirilmiş; T, LAM, Haarlem ve S ailelerine ait izolatların oranı sırasıyla %50.9, %15, %10.9 ve %4.1 olarak saptanmış, 3 (%1.36) suşun ise Beijing ailesinde olduğu belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda da, spoligotiplendirme yöntemiyle değerlendirilen izolatlar arasında *M.tuberculosis* Beijing suşu prevalansı %1.3 olarak tespit edilmiştir. Bu suşların tamamı Şanlıurfa bölgesindeki hastalara ait örneklerden izole edilmiştir. Bölgesel olarak değerlendirme sonucunda, Şanlıurfa ilinde Beijing suşlarının prevalansının %8.4 olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, bölgemizde sadece Şanlıurfa ilinde *M.tuberculosis* Beijing suşlarının bulunduğu, diğer illerde henüz bu suşlara rastlanmadığı tespit edilmiş, aktif sürveyans çalışmalarıyla bu suşların bölge hareketlerinin izlenerek yayılmalarının engellenmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Mathema B, Kurepina NE, Bifani PJ, Kreiswirth BN. Molecular epidemiology of tuberculosis: current insights. Clin Microbiol Rev 2006; 19(4): 658-85.
2. Esen N. Tüberkülozda mikobakteriyel persistans mekanizmaları, s: 58-64. 4. Tüberküloz Sempozyumu Kitabı, 2005, Malatya.

3. Driscoll JR. Spoligotyping for molecular epidemiology of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Methods Mol Biol* 2009; 551: 117-28.
4. Niemann S, Diel R, Khechinashvili G, Gegia M, Mdivani N, Tang YW. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing lineage favors the spread of multidrug-resistant tuberculosis in the Republic of Georgia. *J Clin Microbiol* 2010; 48(10): 3544-50.
5. Skuce RA, McCorry TP, McCarroll JF, et al. Discrimination of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria using novel VNTR-PCR targets. *Microbiology* 2002; 148 (Pt 2): 519-28.
6. T.C. Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Dairesi Başkanlığı. Türkiye'de Verem Savaşı 2009 Raporu. 2009, Ankara.
7. Jassal MS, Bishai WR. Epidemiology and challenges to the elimination of global tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2010; 50(Suppl 3): S156-64.
8. Zozio T, Allix C, Gunal S, et al. 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 Microbiol* 2005; 5: 44.
9. Gunal S. Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinden toplanan *Mycobacterium tuberculosis* izolatlarının IS6110 RFLP (restriction fragment length polymorphism) ve spoligotyping profillerinin belirlenmesi. Doktora Tezi, 2006. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Malatya.
10. Koksalan OK, Kilicaslan Z, Zanlier G, Guzel R, Seber E. Prevalence of Beijing genotype *Mycobacterium tuberculosis* strains in Istanbul. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10(4): 469-72.
11. Valcheva V, Mokrousov I, Narvskaya O, Rastogi N, Markova N. Utility of new 24-locus variable-number tandem repeat typing for discriminating *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates collected in Bulgaria. *J Clin Microbiol* 2008; 46(9): 3005-11.
12. Gencer B, Shinnick TM. Molecular genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Turkey. *Am J Infect Dis* 2005; 1(1): 5-11.
13. Otlu B, Durmaz R, Gunal S, Sola C, Zozio T, Rastogi N. Beijing/W and major spoligotype families of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated from tuberculosis patients in Eastern Turkey. *New Microbiol* 2009; 32(3): 255-63.