



BÖLÜM 42

TÜBERKÜLOZ BASİLLERİNİN MOLEKÜLER TIPLENDİRMESİ: IS6110 RFLP, MIRU-VNTR VE SPOLİGOTİPLENDİRME

Rıza DURMAZ¹
Ahmet ARSLANTÜRK²

Mycobacterium tuberculosis bakterisinin neden olduğu tüberküloz (TB), eski bir hastalık olmasına rağmen dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmekte ve dünya çapında ölüme neden olan bulaşıcı hastalıkların başında gelmektedir. Dünya nüfusunun dörtte biri TB basili ile enfektedir. Aktif TB bunların %5-10'unda gelişmektedir. Akciğer TB, yetişkinlerde ve çocuklarda en sık görülen formdur ve hastalığın bulaşmasının başlıca kaynağıdır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2021 raporuna göre 2019 yılında yaklaşık 1.514 000 kişinin TB nedeniyle öldüğü tahmin edilmektedir¹.

Etkili TB kontrolü için erken tanı, uygun tedavinin başlatılması ve TB epidemiyolojisinin anlaşılması çok önemlidir. *M. tuberculosis* izolatlarının tür düzeyinde tanımlanması ve anti-TB ilaçlara duyarlıklarının fenotipik yöntemlerle yapılması mümkündür, ancak bu işlemler zordur ve uzun zaman almaktadır. Son yıllarda izolatların tanımlanması, genotiplerine ayrılması ve anti-TB ilaçlara dirençli varyantlardaki mutasyonların saptanması için çe-

şitli moleküler yöntemler geliştirilmiştir^{2,3}.

Moleküler Tiplendirme Yöntemlerinin Uygulanma Alanları

M. tuberculosis, çok düşük bir genetik çeşitliliğe sahiptir ve genetik açıdan monomorf olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, *M. tuberculosis* suşları arasında gözlenen genetik varyasyonlar, özellikle coğrafi dağılımlarına bağlı olarak çeşitli genotiplerin ayırt edilmesini sağlamaktadır. Suşlar arasındaki genetik varyasyonlar TB'nin moleküler epidemiyolojisi ve yayılma dinamiğinin izlenmesini olanaklı kılmaktadır^{3,4}.

Moleküler yöntemler, TB'nin tanı ve kontrolünde kritik bir rol oynamaktadır. Moleküler tiplendirme yöntemleriyle farklı kaynaklardan üretilmiş *M. tuberculosis* izolatları üzerinde ayrıntılı analizler yapılarak, ortak bir atadan gelip gelmedikleri (aynı klon içinde olup olmadıkları) ortaya konulmaktadır. Geleneksel epidemiyolojik veriler eşliğinde moleküler tiplendirme sonuçları kullanılarak TB'de kaynak ve bulaş yolları belirlenmekte, hastalığın

¹ Prof Dr, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., rdurmaz@ybu.edu.tr

² Uzm., SB Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. Tüberküloz Referans Laboratuvarı, ahmetehcec@yahoo.com

Sonuç

M. tuberculosis suşlarının genotiplendirilmesi epidemiyolojik çalışmalar için kritik öneme sahiptir ve DSÖ tarafından koordine edilen TB kontrol programlarının ana bileşeni haline gelmiştir. Genotiplendirme çalışmaları bir toplumdaki *M. tuberculosis* spesifik izolatlarının izlenmesini sağlayarak, TB'nin yayılma dinamiklerinin anlaşılmasına katkı sağlamaktadır. Uzun süreden beri tekli veya kombinasyonlar halinde (IS6110 RFLP ve Spoligotiplendirme, IS6110 RFLP ve MIRU-VNTR, Spoligotiplendirme ve MIRU-VNTR gibi) kullanılan konvansiyonel moleküler tiplendirme yöntemleri, bulaşma zincirinin ortaya konulmasında başarılı olabilmektedir⁵. Tam genom dizileme ayrıca enfeksiyonun kaynağı, aynı izolatı paylaşan bireyler arasındaki bulaşma yolları, TB evrimi, basilin virülansı ve antibiyotiklere direnci hakkında da bilgiler vermektedir. YND yöntemleri, yakın gelecekte tüberkülozun moleküler epidemiyolojik çalışmalarında kullanılacak yeni bir "altın standart" olma yolundadır.

Kaynaklar

1. Global tuberculosis report 2021. Geneva: World Health Organization; 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
2. Cannas A, Mazzarelli A, Di Caro A, Delogu G, Girardi E. Molecular typing of Mycobacterium tuberculosis strains: A fundamental tool for tuberculosis control and elimination. *Infect Dis Rep* 2016;8(2): 6567.
3. MacLean E, Kohli M, Weber SF, Suresh A, Schumacher SG, Denkinger CM, et al. Advances in molecular diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2020;58(10): e01582-19.
4. Ei PW, Aung WW, Lee JS, Choi GE, Chang CL. Molecular strain typing of Mycobacterium tuberculosis: A review of frequently used methods. *J Korean Med Sci* 2016;31: 1673-1683.
5. Amlerova J, Bitar I, Hrabak J. Genotyping of Mycobacterium tuberculosis using whole genome sequencing. *Folia Microbiologica* 2018;63: 537-545.
6. Nino M, Levan J, Sonia B, Nestani T, Rusudan A, Zaza A, et al. Classifying recurrent Mycobacterium tuberculosis cases in Georgia using MIRU-VNTR typing. *Plos One* 2019;14(10): 1-9.
7. Jie S, Danwei Z, Yankun Z, Xiaoguang M, Shaohua W, Hui L, et al. Role of MIRU-VNTR and spoligotyping in assessing the genetic diversity of Mycobacterium tuberculosis in Henan Province, China. *BMC Infect Dis* 2018;18: 447.
8. García VD, Mokrousov I, Rastogi N. Innovations in the molecular epidemiology of tuberculosis. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2011;29 (Suppl 1): 8-13.
9. Center for Disease Control. TB genotyping. <https://www.cdc.gov/tb/programs/genotyping/>. Erişim tarihi:31 Mayıs 2022.
10. Shi J, Zheng D, Zhu Y, Ma X, Wang S, Li H, et al. Role of MIRU-VNTR and spoligotyping in assessing the genetic di-

versity of Mycobacterium tuberculosis in Henan Province, China. *BMC Infect Dis* 2018;18: 447.

11. Emilyn CC, Richard SS, Karen MG, Arthur ESG, Marília LC, Ricardo JPSG, et al. Molecular epidemiology of Mycobacterium tuberculosis in Brazil before the whole genome sequencing era: a literature review. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 2021;116: 1-14.
12. van Embden JD, Cave MD, Crawford JT, Dale JW, Eisenach KD, Gicquel B, et al. Strain identification of Mycobacterium tuberculosis by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *J Clin Microbiol* 1993;31: 406-9.
13. Thierry D, Brisson-Noël A, Vincent-Lévy-Frébault V, Nguyen S, Guesdon JL, Gicquel B. Characterization of a Mycobacterium tuberculosis insertion sequence, IS6110, and its application in diagnosis. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 2668-73.
14. Kamerbeek J, Schouls L, Kolk A, van Agterveld M, van Soolingen D, Kuijper S, et al. Simultaneous detection and strain differentiation of Mycobacterium tuberculosis for diagnosis and epidemiology. *J Clin Microbiol* 1997;35(4): 907-14.
15. Center for Disease Control. Guide to the Application of Genotyping to Tuberculosis Prevention and Control. www.cdc.gov/tb/programs/genotyping/chap3/3_cdclab.htm. Erişim tarihi: 6 Ağustos 2022.
16. Couvin D, David A, Zozio T, Rastogi N. Macro-geographical specificities of the prevailing tuberculosis epidemic as seen through SITVIT2, an updated version of the Mycobacterium tuberculosis genotyping database. *Infect Genet Evol* 2019;72: 31-43.
17. Pere C, Darío GV. Molecular epidemiology of tuberculosis. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2018;36(4): 233-240.
18. Supply P, Allix C, Lesjean S, Cardoso-Oelemann M, Rüsch-Gerdes S, Willery E, et al. Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing of Mycobacterium tuberculosis. *J. Clin. Microbiol* 2006;44: 4498-510.
19. Supply P, Mazars E, Lesjean S, Vincent V, Gicquel B, Locht C. Variable human minisatellite-like regions in the Mycobacterium tuberculosis genome. *Mol Microbiol* 2000;36: 762-71.
20. Micheni LN, Kassaza K, Kinyi H, Ntulume I, Bazira J. Detection of Mycobacterium tuberculosis multiple strains in sputum samples from patients with pulmonary tuberculosis in south western Uganda using MIRU-VNTR. *Sci Rep* 2022;12,1656.
21. Cláudio JA, Wânia SC, Isabela NA, Lida JAF, Nayanne GT, Philip NS, et al. Comparative study of RFLP-IS6110 and MIRU-VNTR from Mycobacterium tuberculosis isolated in the state of Minas Gerais, Brazil. *BMC Infect Dis* 2018;18: 447.
22. Oelemann MC, Diel R, Vatin V, Haas W, Rüsch-Gerdes S, Locht C, et al. Assessment of an optimized mycobacterial interspersed repetitive-unit-variable-number tandem-repeat typing system combined with spoligotyping for population-based molecular epidemiology studies of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2007;45: 691-7.
23. Malabad JCM, Ang CF, Palabrica FAR, Cajucom MAM, Gloriani NG, Villanueva SYAM, et al. Molecular epidemiology of Mycobacterium tuberculosis in adult Filipino TB-HIV co-infected patients. *Int J Tuberc Lung Dis* 2021;25(4): 285-291.
24. Walker TM, Ip CL, Harrell RH, Evans JT, Kapatai G, Dedicoat MJ, et al. Whole genome sequencing to delineate Mycobacterium tuberculosis outbreaks: a retrospective observational study. *Lancet Infect Dis* 2013;13: 137-46.
25. Center for Disease Control. Whole Genome Sequencing. www.cdc.gov/tb/programs/genotyping/genome-sequencing.htm. Erişim tarihi:31 Mayıs 2022.