

İDRAR KÜLTÜRLERİNDE ÜREYEN NOVOBİOSİNE DUYARLI KOAGULAZ NEGATİF STAFİLOKOKLAR: KONTAMİNASYON MU, GERÇEK PATOJEN Mİ?

Dr. Nuray BÜYÜKBERBER *
Dr. Bengül DURMAZ *
Dr. İbrahim Halil ÖZEROL *
Dr. Rıza DURMAZ *
Dr. Saim YOLOĞLU **

İdrar kültürlerinde üreyen S. saprophyticus dışındaki koagulaz negatif stafilocokların kontaminasyon mu, gerçek patojen mi olduklarının tespit edilmesinde klinik semptomlarla laboratuvar bulguları arasındaki uyum analiz edildi. Bu amaçla hastanemiz polikliniklerine başvuran 31'i asemptomatik ve 35'i semptomatik toplam 66 kişinin idrar örnekleri incelendi. Koloni sayısı ve klinik semptomlar arasında anlamlı bir korelasyon tespit edildi. Semptomatik hastalardan alınan 15 örnekte $\geq 5.10^4$ CFU/ml üreme olurken, asemptomatik hastalardan alınan örneklerin hiçbirinde 3.10^4 CFU/ml'den daha fazla üreme olmadı. Klinik semptomları olmayan kişilerden elde edilen ve düşük sayıda koloni oluşturduğu için kontaminant olduğu düşünülen bakterilerin, antibiyotik duyarlılık profillerindeki benzerlik yüksek sayıda koloni oluşturanlardan fazla bulundu. Bu sonuçlarla idrar kültürlerinde üreyen S. saprophyticus hariç, koagulaz negatif stafilocokların kontaminasyon mu yoksa gerçek patojen mi olduklarının değerlendirilmesinde klinik semptomların, koloni sayısının ve antibiyogram sonuçlarının birlikte değerlendirilmesinin uygun olacağı söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Koagulaz negatif stafilocoklar, idrar kültürü

* İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD
MALATYA
** İnönü Üniversitesi Tıp
Fakültesi, Biyoistatistik AD
MALATYA

Novobiocine-Sensitive, Coagulase-Negative Staphylococci in Urinary Cultures: Are They Causative Agents or Contaminants?

A total of 66 subjects (31 asymptomatic and 35 symptomatic) whose urine culture yielded coagulase-negative staphylococci other than Staphylococcus saprophyticus were evaluated both clinical and laboratory findings to figure out whether these bacteria are contaminant or causative agent. There was a good correlation between amount of colony counts and clinical symptoms. Fifteen urine samples from symptomatic people yielded $\geq 5.10^4$ CFU/ml whereas all samples from asymptomatic ones had colony counts less than 3.10^4 CFU/ml. The isolates were considered as a contaminant based on less colony counts and absent of clinical symptoms showed more similar susceptibility profiles to antimicrobial agents than those with higher colony counts. In conclusion, the findings of clinical, laboratory and antibiotics susceptibility testing procedure should be considered together to make acceptable discussion about coagulase-negative staphylococci other than S. saprophyticus.

Yazışma adresi:
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
44069 MALATYA
Tel: 422 341 0660/1251
e-mail: nbuyukberber@usa.net

Key words: Coagulase-negative staphylococci, urinary culture

Koagülaz negatif stafilokoklar kültürlerde en çok izole edilen mikroorganizmalar olmalarının yanında nozokomiyal enfeksiyonların etkeni olarak gittikçe artan öneme sahiptirler.¹⁻³ Bu bakterileri genellikle kontaminant olarak değerlendiren üzerinde fazla durmayan araştırmacılar olduğu gibi gerçek patojen olduğunu düşünen ve kontaminant olarak atılan vakaların sık olduğunu bildiren araştırmacılar da bulunmaktadır.³⁻⁶ Kan kültürlerinden izole edilmeleri halinde gerçek bakteriyemi etkeni mi, kontaminant mı kararını verdirecek klinik ve laboratuvar ipuçları daha fazla olduğu halde özellikle cilt ve idrar kültürlerinde bu kararı vermek daha zordur.^{2,4} Yapılan çalışmalarda kültürlerde izole edilen koagülaz negatif stafilokoklardan kontaminant olduğu düşünülen türlerin gerçek patojenlerden ayırt edilmesinde klinik değerlendirmenin önemi vurgulanmaktadır.^{1,2,4-6} Türlerin tespit edilmesi, fenotipik özellikler, antibiyotipleme gibi rutin sık kullanılan yöntemler ile bu ayırımı yapmak zordur. Çünkü genetik olarak ilişkili çeşitli koagülaz negatif stafilokok izolatları arasındaki farklılıkları belirleme ve türü tanımlamada bu rutin metodlar yetersiz kalmaktadır.²⁻⁸ İleri tetkiklerin rutin uygulamada kullanılmaları fiyat-yarar oranı açısından uygun bulunmamaktadır.²⁻⁸ Bu çalışmada, idrar örneklerinden sıklıkla izole edilen ve kültür sonuçlarının değerlendirilmesinde problemler oluşturan koagülaz negatif stafilokokların koloni sayıları ile klinik semptomlar arasındaki ilişkiyi belirlemek amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Hasta seçimi: Klinik olarak üriner semptomları olan veya asemptomatik olduğu halde idrar mikroskopisinde her büyük büyütme sahasında >5 lökosit saptanan poliklinik hastalarından idrar kültürlerinde koagülaz negatif stafilokok üreyen 66 hasta çalışmaya alındı. Hastalardan 31'i asemptomatik, 35'i semptomatik idi. Hastaların kimlik bilgileri, semptomları, anamnez ve fizik muayene bulguları, idrar kültürlerinde üreyen koagülaz negatif stafilokokların koloni sayıları ve antibiyogram sonuçları analiz edildi.

İdrar kültürü: Numuneler, sıvı sabun ile dış genital bölgenin local temizliği yapıp steril

gazlı bezle kurulandıktan sonra steril idrar kaplarına veya steril idrar torbalarına orta akım idrarı alındı. Kanlı agar ve EMB besi yerlerine ekim yapılarak, 35°C da 24 saat inkübe edildi.

Mikroorganizmanın tanımlanması ve duyarlılık testleri: Üreme olan plaklarda koloni sayımı yapıldı. Koloni morfolojisi, mikroskopik görünümü, katalaz, koagülaz aktiviteleri ve novobiosin'e duyarlılıklarından yararlanarak bakterilerin tanımları yapıldı.

Antimikrobiyal duyarlılık testi için NCCLS tavsiyeleri doğrultusunda Kirby-Bauer disk diffüzyon yöntemi kullanıldı. Penisilin, oksasilin, sefazolin, sefalotin, sulbaktam-ampisilin, kotrimaksazol, norfloksasin, nitrofurantoin ve vankomisin diskleri ile antimikrobiyal duyarlılık sonuçları incelendi.

İstatistikler: Koloni sayıları ile semptomlar ve antibiyotik duyarlılıkları arasındaki ilişkilerin incelenmesinde, SPSS® for Windows v6.01 programı kullanılarak "iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi" ve "Spearman correlation" testleri uygulandı.

BULGULAR

Klinik olarak asemptomatik olan 31 hastadan alınan idrar örneklerinin 26'sında ml'de 10^4 den daha az, 5'inde $<3 \times 10^4$ bakteri saptandı. Bu hastaların hiçbirinde 3×10^4 koloni sayısı üzerinde bakteri saptanmadı. Semptomatik olan 35 hastaya ait örneklerin 13'ünde 10^4 den daha az, 8'inde $10^4 - <5 \times 10^4$, 11'inde $5 \times 10^4 - <10^5$, 3'ünde 10^5 koloni ve üzerinde üreme görüldü (Tablo1).

Koloni sayısı ile semptomlar arasında pozitif korelasyon mevcuttu (Spearman's correlation coefficient $r=0.16714$, $p<0.001$). Koloni sayısı 10^5 ve üzerinde olan hastalarda ateş, inkontinans ve poliüri dışında tüm semptomlar pozitif. En sık görülen semptomlar dizüri, noktüri ve kostavertebral açığı hassasiyeti idi (Tablo 2).

Koloni sayısı 10^4 ve altında olan 39 hastaya ait sonuçların benzer antibiyogram sonuçları

İdrar Kültürlerinde Üreyen Novobiosine Duyarlı Koagulaz Negatif Stafilkokklar: Kontaminasyon mu? Gerçek Patojen mi?

Tablo 1. Semptomatik ve asemptomatik olgulardan alınan örneklerde koloni sayılarının dağılımı

	Koloni Sayısı			
	< 10 ⁴	10 ⁴ -<5.10 ⁴	5.10 ⁴ -<10 ⁵	≥10 ⁵
Asemptomatik (n=31)	26	5	0	0
Semptomatik (n=35)	13	8	11	3
Toplam (n=66)	39	13	11	3

Tablo 2. Semptomlar ve koloni sayısı arasındaki ilişkiler.

		Koloni sayısı (CFU/mL)				Pearson	
		< 10 ⁴	10 ⁴ -<5.10 ⁴	5.10 ⁴ -<10 ⁵	≥10 ⁵	r	p
Dizüri	Var	1	1	-	-	0.15007	0.389
	Yok	12	7	11	3		
Noktüri	Var	9	4	1	-	0.55559	0.00053
	Yok	4	4	10	3		
Pollaküri	Var	10	8	11	3	-0.33856	0.03906
	Yok	3	-	-	-		
Poliüri	Var	7	3	1	-	0.44322	0.0074
	Yok	6	5	10	3		
İnkontinans	Var	12	8	11	3	-0.18963	0.275
	Yok	1	-	-	-		
CVAH*	Var	7	2	2	-	0.38215	0.023
	Yok	6	6	9	3		

*CVAH: Kostovertebral aç hassasiyeti

Tablo 3. Antibiyotiklere dirençli suşların koloni sayılarına göre dağılımı.

	Koloni sayısı (CFU/mL)								Toplam	
	< 10 ⁴		10 ⁴ -<5.10 ⁴		5.10 ⁴ -<10 ⁵		≥10 ⁵		n	%
	n	%	n	%	n	%	n	%		
Norfloksasin	1	33.3	2	66.7	-	-	-	-	3	100
TMP-SMX	5	35.7	6	42.8	2	14.3	1	7.2	14	100
Sulbaktam-Ampisilin	3	50	2	33.3	1	16.7	-	-	6	100
Sefazolin	-	-	1	100	-	-	-	-	1	100
Sefalotin	2	25	5	62.5	-	-	1	12.5	8	100
Oksasilin	2	100	-	-	-	-	-	-	2	100
Penisilin G	31	55.4	16	28.6	6	10.7	3	5.4	56	100
Toplam	44	48.9	32	35.5	9	10.0	5	5.5	90	100

gösterdiği belirlendi. Bu kişilerden izole edilen 39 suştan 31'i penisilin G'ye, 5'i TMP-SMX'e, 3'ü sulbaktam-ampisilin'e, 2'si sefalotin'e, 2'si oksasilin'e ve 1'i norfloksasin'e dirençli bulundu. Bu gruptaki 3 izolatın 5 ve 2 izolatın ise 6 antibiyotiğe birlikte dirençli olduğu tespit edildi (Tablo 3).

Koloni sayısı 10⁴'ün üzerinde olan 27 suştan 25'i penisilin G'ye, 9'u TMP-SMX'e, 6'sı sefalotine, 3'ü sulbaktam-ampisilin'e, 2'si norfloksasine ve 1'i sefazoline dirençli bulundu. Bu

gruptaki 6 izolatın 5 ve 3 izolatın ise 6 antibiyotiğe birlikte dirençli olduğu tespit edildi (Tablo 3).

TARTIŞMA

Koagulaz negatif stafilkokklardan *Staphylococcus saprophyticus* üropatojen olarak kabul edilmekte, diğerleri ise kontaminant olarak değerlendirilmektedir.^{9,10} Ancak idrar kültürlerinde bazen bu bakteriler saf kültür halinde ve oldukça fazla koloni oluşturarak üreyebil-

mektedir. Bu durumda hastanın kliniği hakkında bilgisi olmayan laboratuvarcı sonucu yorumlamakta güçlük çekmekte ve ne yazık ki böyle kültürlerin değerlendirilmesinde belli bir ortak görüş bulunmamaktadır. Çalışmamızda idrar kültüründe üretilen *S. saprophyticus* dışı koagülaz negatif stafilocokların kontaminasyon mu gerçek patojen mi olduklarının tespit edilmesinde klinik değerlendirmenin önemi ve klinik semptomlarla koloni sayıları arasındaki uyum analiz edildi. Koloni sayısı ile semptomlar arasında pozitif korelasyon vardı (Tablo 2). Önceden rapor edildiği gibi⁷ çalışmamızda asemptomatik hastaların çoğunluğu düşük koloni sayısına sahipti ve bu hastaların hiçbirinde 3×10^4 koloni üzerinde üreme olmadı. Buna karşın semptomatik hastaların %38.5'i gibi önemli bir kısmının idrarlarında ml'de 50.000'in üzerinde koloni saptanmıştır. Koloni sayısı arttıkça antibiyogram sonuçlarının benzerliğini yitirmesi ve birden çok antibiyotiğe direnç gözlenmesi semptomlu olan yüksek koloni sayısına sahip bu grup hastalarda kontaminasyon riskinin daha az olduğunu desteklemektedir.^{7,11} Bu bulguların ışığında, idrar kültürlerinde üreyen koagülaz negatif stafilocokların gerçek patojen mi, kontaminasyon mu olduğunu belirlemede klinik semptomların, koloni sayısının ve antibiyogram sonuçlarının birlikte değerlendirilmesinin uygun olacağı söylenebilir. Böylece klinik olarak asemptomatik, düşük koloni sayısına sahip özellikle hastanede yatmakta olan hastalara gereksiz yere antibiyotik verilmemiş olacak ve bunun sonucu olarak antibiyotiklere dirençli genlerinin yayılması engellenecektir.

Diğer çalışmalara^{9,12,13} paralel olarak bizim çalışmamızdan da çıkan önemli bir diğer sonuç, sık kullanılan penisilin G, trimetoprim-sulfametaksazol, sulbaktam-ampisilin gibi ilaçlara yüksek oranda direnç saptanırken sefalotin, sefazolin, norfloksasin ve özellikle nitrofurantoin gibi ucuz ilaçlara duyarlılığın yüksek oranda tespit edilmesidir.

KAYNAKLAR

1. Tokunaga S, Ohkawa M, Nakashima T, Yamaguchi K, Nishikawa T, Ishiura Y, Kobayashi T, Hisazumi H, Fujita S. A clinical study on patients with urinary tract infection due to coagulase-negative staphylococci. *Kansenshogaku Zasshi* 1992; 66(9): 1213-17
2. Pfaller MA, Herwaldt LA. Laboratory, clinical, and epidemiological aspects of coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev* 1988; 1: 281-99.
3. Bailey EM, Constance TD, Albrecht LM, Rybak MJ. Coagulase-negative staphylococci: incidence, pathogenicity, and treatment in the 1990s. *DIAP* 1990; 24:714-20
4. Khatib R, Riederer KM, Clark JA, Khatib S, Briski LE, Wilson FM. Coagulase-negative staphylococci in multiple blood cultures: strain relatedness and determinants of same-strain bacteremia. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 816-20.
5. Oren I, Merzbach D. Clinical and epidemiological significance of species identification of coagulase-negative staphylococci in a microbiological laboratory. *Isr J Med Sci* 1990; 26: 125-8.
6. Large M, Stubbs E, Benn R, Beard-Pegler MA, Harbour C, Vickery AM. A study of coagulase-negative staphylococci isolated from clinically significant infections at an Australian teaching hospital. *Pathology* 1989; 21: 19-22.
7. Kunin CM, White LV, Hua TH. A reassessment of the importance of "low-count" bacteriuria in young women with acute urinary symptoms. *Ann Intern Med* 1993; 119(6): 454-60.
8. Kloos WE, Bannerman TL. Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev* 1994; 7: 117-40.
9. Cardoso CL, Muraro CB, Siqueira VLD, Guilhermetti M. Simplified technique for detection of significant bacteriuria by microscopic examination of urine. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 820-3.
10. Koneman EW, Allen SD, Yanda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 5th ed. Philadelphia, New York Lippincott; 1997: 136-42.
11. Rimland D, Alexander W. Absence of factors associated with significant urinary tract infections caused by coagulase-negative staphylococci. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1989; 12: 123-7.
12. Refsahl K, Andersen BM. Clinically significant coagulase-negative staphylococci: identification and resistance patterns. *J Hosp Infect* 1992; 22: 19-31.
13. Pal N, Ayyagari A. Species identification & methicillin resistance of coagulase negative staphylococci from clinical specimens. *Indian J Med Res* 1989; 89: 300-5.