

## KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN KOAGÜLAZ NEGATİF STAFİLOKOK TÜRLERİNDE "SLIME" OLUŞUMU VE ANTİBAKTERİYELERE DUYARLILIĞI

Selma AY, Mehmet S.TEKEREKOĞLU, Mehmet BAYRAKTAR,  
Latife ABUT, Bennur DUMAN

### ÖZET

Aralık 2000 - Nisan 2001 arasında, yatan hastaların kan, idrar, cerahat, BOS, vagina salgısı gibi klinik örneklerinden izole edilen 51 koagülaz negatif stafilokok (KNS) çalışmaya alınmıştır. Slime üretimi Kongo-kırmızılı agar ve Christensen yöntemleriyle araştırılmıştır. İzole edilen bakterilerin antibakteriyel duyarlılıkları ve tanımlanmaları Sceptor *Staphylococcus* Break-point/ID Panel (Becton Dickinson) ile yapılmıştır.

Ellibir KNS'un 25'i *S.epidermidis*, 12'si *S.hominis*, 8'i *S.warneri*, 2'si *S.simulans*, 2'si *S.capitis*, 1'i *S.saprophyticus*, 1'i *S.sciuri* olarak tanımlanmıştır.

KNS'ların 15 (% 29)'inde slime pozitifliği tespit edilmiştir. Slime oluşturan suşlarda metisilin, amoksisilin-klavulanik asit, sefazolin, gentamisin, klindamisin ve siprofloksasin direnci, slime oluşturmayanlara oranla, yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

**Anahtar kelimeler:** Koagülaz negatif stafilokok, slime oluşumu, antibiyotik direnci

### SUMMARY

*Antibacterial susceptibilities and slime production of coagulase negative Staphylococcus species isolated from clinical specimens.*

During the period of November 2000 throughout April 2001, a total of 51 coagulase negative *Staphylococcus* (CNS) strains isolated from blood, urine, pus, CSF and vaginal samples of hospitalized patients were studied. Slime production was investigated by Congo-red agar and Christensen methods. Antibiotic susceptibilities and identifications were performed by the Sceptor *Staphylococcus* Breakpoint/ID Panel (Becton-Dickinson).

Among 51 CNS isolates, *S.epidermidis* constituted 25, *S.hominis* 12, *S.warneri* 8, *S.simulans* 2, *S.capitis* 2, *S.saprophyticus* 1 and *S.sciuri* 1 strains. Slime production was detected in 15 of 51 CNS strains (29 %). Resistance to methicillin, amoxicillin-clavulanic acid, cefazolin, gentamicin, clindamycin and ciprofloxacin were found to be higher in slime positive strains than that in slime negative strains ( $p<0.05$ ).

**Key words:** Coagulase negative staphylococci, slime production, antibiotic resistance

### GİRİŞ

Koagülaz negatif stafilokoklar (KNS), insan vücudunda normal flora üyesi olarak bulunurlar. *S.epidermidis* ve diğer KNS'ların ciddi sağlık problemi oluşturmasında yüzeylere yapışmayı sağlayan slime salgılama yeteneğinde olmaları önemlidir. Slime veya glikokaliks; ekzopolisakkarit, teikoik asit ve proteinden oluşan bir yapıdır. Slime faktörü klinik izolatlarda sıklıkla, saprofit örneklerde nadiren saptanabilmektedir.

Slime; bakteriyi fagositoz ve degranülasyondan korudu-

ğu gibi, kemotaksi ve opsonositofajiyi önler, nötrofil etkisini inhibe eder ve lenfosit aktivitesini azaltır. Slime oluşturan bakterilerin inatçı infeksiyonlara yol açtığı, antibiyotiklerin etkisini önleyici bir fonksiyonu olduğu da bildirilmektedir (1,3,5,6,10,11).

Bu çalışma, klinik örneklerden izole edilen ve etken olduğu düşünülen KNS'larda slime oluşumu ile antibakteriyel direnç arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmak amacıyla yapılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Aralık 2000 ile Nisan 2001 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapılmıştır. Çeşitli kliniklerde yatan hastalardan laboratuvarımıza gönderilen 28'i kan, 10'u yara, 9'u idrar, 3'ü BOS, biri de vajen kültüründen izole edilen ve infeksiyon etkeni olabileceği düşünülen toplam 51 KNS incelenmiştir. Stafilokoklar koloni morfolojisi, Gram boyama özelliği, katalaz ve koagülaz testleri ile tanımlanmıştır (1,2). Slime oluşumu Kongo-kırmızılı agar ve Christensen yöntemleri kullanılarak yapılmıştır.

Kongo kırmızılı agar besiyeri; 10 g agar, 50 g sakkaroz, 37 g beyin kalp infüzyon buyyonu ve 0.8 g Kongo kırmızısı olacak şekilde hazırlanıp, steril edilerek petrilere dökülmüştür. Slime araştırılacak suşlar, bu besiyerine tek koloni düşecek şekilde ekilmiş, 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra, siyah koloni oluşturan örnekler slime pozitif olarak değerlendirilmiştir (9).

Tüp yönteminde slime araştırmak için Christensen besiyeri hazırlanmıştır. Bunun için; 37 g triptik soy buyyon 1000 ml saf su içinde eritildikten sonra, pH'sı ayarlanarak tüplere 5'er ml dağıtılıp steril edilmiştir. İncelenecek örnekler bu besiyerine ekilip 24 saat 37°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda tüp içeriği boşaltılıp % 0.25'lik safranin-O çözeltisinden 1 ml tüplere konulmuş, beş dakika beklenip, boya dökülmüştür. Tüp duvarında kırmızı-pembe renkli film tabakası bulunması slime pozitif olarak değerlendirilmiştir. Tüpte hava sıvı seviyesinin olduğu yerde halka şeklinde boya tutulumu negatif olarak kabul edilmiştir (9). Testin negatif kontrolü *S.aureus* ATCC 25923 suşu ile yapılmıştır.

Örneklerin tür seviyesinde tanımlanmaları ve antibiyotiklere duyarlılıkları Sceptor *Staphylococcus* Break point/ID Panel (Becton Dickinson) ile, istatistiksel analiz testleri Epi INFO-2000 paket programında 2x2 tablo testi ile yapılmıştır.

## BULGULAR

Klinik örneklerden izole edilen KNS'lardan 25 (% 49)'i *S.epidermidis*, 12 (% 23)'si *S.hominis*, 8 (% 16)'i *S.warneri*, 2 (% 4)'si *S.simulans*, 2 (% 4)'si *S.capitis*, 1 (% 2)'i *S.saprophyticus*, 1 (% 2)'i *S.sciuri* olarak tanımlanmıştır.

Ellibir örnekten 15 (% 29)'ünün slime pozitif olduğu belirlenmiştir. Bunlar içinde ilk sırayı *S.epidermidis* (% 16)

alırken, bunu *S.hominis* (% 8) ve *S.warneri* (% 6) izlemiştir. *S.capitis*, *S.saprophyticus*, *S.simulans* ve *S.sciuri* suşlarında slime oluşumu saptanmamıştır.

Slime oluşturan 15 örneğin 8'i kan kültürlerinden, 5'i cerahat, biri BOS'dan, biri de idrar kültüründen izole edilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Slime oluşturan (+) ve oluşturmeyen (-) KNS suşlarının türlere ve muayene maddelerine göre dağılımı.

Muayene maddesi	<i>S.epidermidis</i>		<i>S.hominis</i>		<i>S.warneri</i>		<i>S.capitis</i>		<i>S.saprophyticus</i>		<i>S.simulans</i>		<i>S.sciuri</i>		Toplam, n (%)		
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	
Kan	5	12	3	3	-	2	-	2	-	-	-	1	-	-	8	20	(39)
Cerahat	2	1	1	1	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	5	(16)	5 (10)
İdrar	-	2	-	3	1	1	-	-	-	1	-	1	-	-	1	(2)	8 (16)
BOS	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	(2)	2 (4)
Vagina sal.	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (2)
Toplam [n (%)]	8 (16)	17 (33)	4 (8)	8 (16)	3 (6)	5 (10)	-	2 (4)	-	1 (2)	-	2 (4)	-	1 (2)	15 (29)	36 (71)	

Kongo kırmızılı agar yöntemiyle örneklerin 12 (% 23)'sinde, Christensen yöntemi ile 15 (% 29)'ünde slime pozitifliği saptanmıştır.

Metisilin direnci, slime oluşturan KNS'larda (n 15) % 80 iken, slime oluşturmeyenlerde (n 36) % 36 oranında saptanmıştır. Slime oluşturan suşlarda penisiline % 100, amoksisilin-klavulanik aside % 93, eritromisin ve klindamisine % 80,

sefazoline % 87, gentamisine % 67, siprofloksasine % 60, trimetoprim-sulfametoksazole % 47 oranında direnç saptanmıştır. Slime oluşturan suşlarda metisilin, amoksisilin-klavulanik asit, sefazolin, gentamisin, klindamisin ve siprofloksasin direnci, slime oluşturmeyenlere oranla yüksek bulunmuştur (p<0.05). Vankomisine dirençli suş saptanmamıştır (Tablo 2).

Tablo 2. Slime oluşturan ( n:15 ) ve oluşturmeyan (n:36) KNS suşlarında antibiyotik direnci.

Antibiyotikler	Slime pozitif		Slime negatif		p
	n	(%)	n	(%)	
Vankomisin	0	0	0	0	
Metisilin	12	80	13	36	(p<0.05)
Penisilin	15	100	30	83	(p>0.05)
Gentamisin	10	67	11	31	(p<0.05)
Eritromisin	12	80	17	47	(p>0.05)
Klindamisin	12	80	8	22	p(<0.05)
Amok-klavulanik asit	14	93	11	31	(p<0.05)
Siprofloksasin	9	60	7	19	(p<0.05)
Sefazolin	13	87	12	33	(p<0.05)
Trimet-sulfametoksazol	7	47	9	25	(p>0.05)

## TARTIŞMA

Son yıllarda KNS'ların hastane kaynaklı infeksiyonlarda önemli rol oynadığı bilinmektedir. KNS'lar içinde özellikle *S.epidermidis* bakteremi, cerrahi yaralar, üriner sistem, se-rebrospinal sıvı, periton diyalizi, oftalmolojik ve damar içi kateterle ilişkili infeksiyonlardan patojen etken olarak izole edilmektedir. *S.hominis* sepsis, üriner infeksiyon; *S.capitis* endokardit, sepsis ve kateter; *S.warneri* endokardit, yumuşak doku infeksiyonları, sepsis, kateter ve osteomyelit; *S.simulans* endokardit, osteomyelit ve sepsis; *S.saprophyticus* ise seksüel yönden aktif genç kadınlarda üriner sistem infeksiyonlarına neden olmaktadır (2,6,7,12).

KNS'lar yabancı cisim infeksiyonlarının başlıca nedenidir. İnfeksiyon oluşmasında ilk aşama, bakterinin biyomater-yale spesifik veya nonspesifik olarak adezyonudur. Bunu slime oluşumu izler. Slime oluşturan bakterinin antibakteriyel-lere direnci; antibiyotiğin biyofilm içine girmesinin geciktirilmesi, biyofilm içindeki mikroorganizmaların üreme hızı-nın yavaş olması ve diğer fizyolojik değişiklikler gibi faktör-lerle ilişkilidir (2,4,6,7,11,12).

Etken olan KNS'larda slime pozitifliği % 80 oranında saptanabilmektedir (2). Ülkemizde yapılan çalışmalarda Ak-yar ve ark. (1) Kongo kırmızılı agar yöntemi ile % 43, Christensen yöntemi ile % 42; Özgüneş ve ark. (10) Kongo kırmızı-lı agar yöntemi ile % 18, Christensen yöntemi ile % 22; Yazgı ve ark. (14) % 21, Nourizadeh ve Sultan (9) % 53 olarak bildirmişlerdir. Yurt dışında yapılan çalışmalarda; Boussard ve ark. (3) % 52, Marone ve ark. (8) % 48, Dro-zenova ve Petras (5) % 13 olarak saptamışlardır. Çalışmamız-

da, etken olduğu düşünülen KNS'lar % 29 oranında slime po-zitif bulunmuştur. Slime araştırması Kongo kırmızılı agar ve Christensen yöntemleri ile yapılmış, iki yöntem arasında ista-tistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05).

KNS'larda metisilin direncini Özgüneş ve ark. (10) % 82, Udo ve ark. (13) % 47, Drozenova ve Petras (5) % 63, Marone ve ark. (8) % 46 oranında saptamışlardır. Çalışma-mızda metisilin direnci % 49 olarak bulunmuştur. Slime oluş-turan örneklerde metisilin direnci % 80, slime oluşturmeyan örneklerde ise % 36 idi. Slime oluşturan örneklerin metisi-line daha yüksek oranda direnç gösterdiği belirlenmiştir (p<0.05).

Udo ve ark. (13) KNS'larda slime oluşumu ve antibiyo-tik direncini araştırmış, *S.epidermidis* suşlarında çoklu anti-biyotik direnci bulunduğunu bildirmiştir. Drozenova ve Petras (5) ve Marone ve ark. (8) slime oluşturan örneklerde çoklu direnç saptadıklarını, antibiyotik direncinin slime oluş-umu ile arttığını, Boussard ve ark. (3) slime oluşturan ör-neklerin en az yedi antibiyotiğe dirençli olduğunu bildirmiş-lerdir. Akyar ve ark. (1) slime pozitif suşlarda kinolon, sefu-roksim, penisilin ve meropenem direncinin daha fazla oldu-ğunu bildirmişlerdir.

Sonuçlarımıza göre slime oluşturan suşların metisilin, amoksisilin-klavulanik asit, sefazolin, gentamisin, klindami-sin ve siprofloksasine daha dirençli olduğu belirlenmiştir. Slime oluşturan KNS'larda çoklu antibiyotik direncinin de saptanması, bu etkenlerin tedavide sorun oluşturmaya devam edip güncelliğini koruyacağını göstermektedir.

## KAYNAKLAR

- 1- Akyar I, Fidan I, Rota S, Türet S: Koagulaz negatif stafilokoklarda slime faktör yapımının üç farklı yöntem kullanılarak araştırılması, bu izolatların tür tayini ve antibiyotik direnci, 8. *Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi*, Kongre ve Program Özet Kitabı s. 763, Antalya (1997).
- 2- Archer GL: Staphylococcus epidermidis and other coagulase-negative staphylococci, "Mandell GL, Bennet JE, Dolin R(eds): *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5. baskı" kitabında s. 2092, Churchill Livingstone, Philadelphia (2000).
- 3- Boussard P, Pithsy A, Devleeschuwer MY: Relationship between slime production, antibiotic sensitivity and the phagetype of coagulase-negative staphylococci, *J Clin Pharm Ther* 18:271 (1993).
- 4- Donlan RM: Role of biofilms in antimicrobial resistance, *ASAIQ Journal* 46:47 (2000).
- 5- Drozenova J, Petras P: Characteristics of coagulase negative staphylococci isolated from haemocultures, *Epidemiol Microbiol Immunol* 49:51(2000).
- 6- Kloos WE, Bannerman TL: Staphylococcus and Micrococcus, "Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH(eds): *Manual of Clinical Micro-biology*, 7. baskı" kitabında s. 264, ASM Press, Washington (1999).
- 7- Koneman EW, Stephan DA, Williams MY, Paul CS, Washington CW: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 5. baskı, s. 547, Lippincott, Philadelphia (1997).
- 8- Marone P, Perversi L, Navarra A, Monzillo V, Sartirane E: Activity of daptomycin against enterococci and coagulase negative staphylococci (CNS): Relationship between CNS susceptibility and slime production, *J Chemother* 5:151 (1993).
- 9- Nourizadeh E, Sultan N: Koagulaz negatif stafilokoklarda slaym (slime) faktör yapımının çeşitli yöntemlerle gösterilmesi, *Infeksiyon Derg* 7:31(1993).
- 10- Özgüneş, Yıldırım D, Çolak H, Durmaz G, Usluer G, Akgün Y: Koagulaz negatif stafilokokların patojenitesi ve antibiyotik duyarlılığı ile slime pozitifliği arasındaki ilişki, *Hastane Infeksiyon Derg* 4:106 (2000).
- 11- Stickler D: Biofilms, *Curr Opin Microbiol* 2:270 (1999).
- 12- Tally FP, Neil LB: Staphylococci: Abscess and other diseases, "Schaechter M, Engleberg NC, Eisenstein BL, Medoff G (eds): *Mechanism of Microbial Diseases*, 3. baskı" kitabında s. 135, Lippincott, Philadelphia (1998).
- 13- Udo EE, Jacob LE, Chugh TD: Antimicrobial resistance of coagulase-negative staphylococci from a Kuwait hospital, *Microbiol Drug Resist* 1:315 (1995).
- 14- Yazgı H, Ayyıldız A, Aktaş AE, Aktaş O, Yiğit N, Görgün S: Bölgemizde çeşitli klinik örneklerden soyutlanan Staphylococcus suşlarının slime faktör ve protein A yönünden incelenmesi, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 27:10 (1997).