

STERİL PYÜRİLİ HASTALARDA MYCOPLASMA HOMINIS VE UREAPLASMA UREALYTICUM PREVALANSI VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞI

Gökhan AFACAN*, Zeki YUMUK**, Nisel ÖZKALAY YILMAZ***, Erdener BALIKÇI**, Fahri MERCAN*

*Bölge Hıfzıssıha Enstitüsü, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İZMİR

**Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KOCAELİ

***Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İZMİR

ÖZET

Steril pyürili hastalarda etken olarak akla gelebilecek mikroorganizmalardan *Mycoplasma hominis* ve *Ureaplasma urealyticum*'un prevalansını ve antibiyotik duyarlılığını saptamak amaçlanmıştır. Ocak 2003 - Ekim 2006 arasında mikrobiyolojik analize gönderilen ve steril lökositüri saptanan hastalara ait idrar örnekleri toplanmıştır. Bu kriteri karşılayan 461 hastaya ait örneklerde (384 kadın, 77 erkek, ortalama yaş: 48) *Mycoplasma hominis* ve *Ureaplasma urealyticum* araştırılıp, doksisiklin, roksitromisin ve ofloksasin duyarlılığına bakılmıştır. Toplam 461 hasta idrarının 13'ünde (% 2.8) yalnız *M.hominis*, 105'inde (% 22.8) yalnız *U.urealyticum*, 32'sinde (% 6.9) iki mikroorganizma da olmak üzere 150'sinde (% 32.5) toplam 45 (% 9.8) *M.hominis* ve 137 (% 29.7) *U.urealyticum* saptanmıştır. Doksisiklin, ofloksasin ve roksitromisine sırasıyla 7 (% 4.7), 28 (% 18.7) ve 35 (% 23.3) örnekte direnç belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: *Mycoplasma hominis*, steril pyüri, *Ureaplasma urealyticum*

SUMMARY

The Prevalence and Antibiotic Susceptibility of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in Patients with Sterile Pyuria

This study aimed to assess the colonization prevalence and antibiotic susceptibility of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* which might be considered as potential pathogens in patients with sterile pyuria. From January 2003 to October 2006 all urine samples sent for microbiological diagnosis and yielded sterile leucocyturia were collected. Samples belonging to 461 patients (female: 384, male: 77; median age: 48 years, range: 8-88 years) met this criterium and were subjected to *M.hominis* and *U.urealyticum* identification and antimicrobial susceptibility to doxycycline, roxithromycin, and ofloxacin. Overall, urogenital mycoplasmas were detected in the urine of 150 patients (32.5 %). *M.hominis* and *U.urealyticum* were detected in 45 (9.8 %) and 137 (29.8 %) samples, respectively. Thirty-two (6.9 %) samples were positive for both species. In 150 positive urines, resistance to doxycycline, ofloxacin and roxithromycin were found in 7 (4.7 %), 28 (18.7 %), and 35 (23.3 %) samples, respectively.

Keywords: *Mycoplasma hominis*, sterile pyuria, *Ureaplasma urealyticum*

GİRİŞ

Mycoplasma hominis ve *Ureaplasma urealyticum* rutin mikrobiyolojik incelemelerle saptanamamakla beraber ürogenital sistemin pek çok hastalığı ile ilişkilidir. İdrarda artmış lökosit sayısı ile ürogenital mikoplasma-üreaplasma ko-

lonizasyonu ilişkisine dair veriler oldukça nadirdir⁽³⁾.

Ürogenital infeksiyonlara neden olabilen mikoplasma ve üreaplasmalar arasında da diğer bakteri türlerinde olduğu gibi gen mutasyonları ya da yeni genetik materyallerin kazanılması ile antibiyotik direnci artabileceğinden,

Yazışma adresi: Gökhan Afacan. Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Tepecik, İZMİR
Tel: (0232) 469 69 69, GSM: (0505) 648 48 20
e-posta: gokaf@yahoo.com

Alındığı tarih: 10.10.2007, revizyon kabulü: 05.12.2007

bu izolatların eskiden kullanılan ve yeni kullanıma giren ilaçlara in-vitro yanıtının test edilmesi günümüzde oldukça büyük önem kazanmaktadır⁽⁴⁾.

Mycoplasma'lar için standardize edilmiş antibiyotik duyarlılık testi bulunmamaktadır. Bu gruplar için prototip olarak kabul edilebilecek olan *M.hominis* ve *U.urealyticum* çok yavaş ürediklerinden, plak yüzeyindeki antibiyotik konsantrasyonu yavaş üreyen koloniler tarafından dengelenemediği için, disk difüzyon yöntemi söz konusu bakterilerin duyarlılık testleri için uygun bir yöntem olmayabilir.

Bu çalışmanın amacı steril pyürili hastalardan üriner sistem patojeni olarak akla getirilmesi gereken *M.hominis* ve *U.urealyticum* izolatlarının ticari biyokimyasal bazlı hızlı bir metotla kültürünün, identifikasyonunun ve antibiyotiklere duyarlılığının saptanmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ocak 2003 ve Ekim 2006 arasında İzmir Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsü Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına gelen idrar örnekleri toplanmıştır. Rutin olarak laboratuvara başvuran hastalardan steril lökositürisi olan (mikroskopik incelemede her küçük büyütme alanında ≥ 8 lökosit olan ve % 5 koyun kanlı agarda üremesi olmayan) tüm idrar örnekleri toplanmıştır. *M.hominis* ve *U.urealyticum* identifikasyonu ve doksisiklin (8 µg/ml), ofloksasin (4 µg/ml) ve roksitromisin (4 µg/ml) duyarlılık testi için biyokimyasal temelli bir kültür ve identifikasyon sistemi (MYCOFAST Evolution 2, Signes, Fransa) kullanılmıştır. Böylece ayaktan başvuran ve steril lökositürisi olan 461 hastaya ait örnek çalışmaya alınmıştır. Hastaların 384'ü kadın, 77'si erkekti ve ortalama yaş 48 (8-88 yaş aralığında) olarak bulunmuştur.

Örnekler kitin üreticisinin çalışma talimatına göre incelenmiştir. Steril idrar kabına alınan idrar homojenizasyonun ardından 200 µL β-laktam ve sulfonamid içeren transport besiyerine (UMMt) alınmıştır. İnoküle edilmiş bu transport besiyerinin tamamı; at serumu, maya ekstresi, β-laktam, sulfonamid, üre, arginin ve

fenol kırmızısı içeren liyofilize üretme besiyerine (UMMLyo) aktarılmıştır. Liyofilize haldeki UMMLyo sulandırıldıktan sonra 100'er µL alınarak kit üzerindeki 1.-10. kuyucuklara (godelelere) konmuş, sonra büyüme aktivatöründen 2'şer damla 2.-9. kuyucuklara eklenmiş ve steril mineral yağ ile tüm kuyucukların üzeri kapatılmıştır. Test stripleri 35°C'de 72 saat inkübe edilmiştir.

Spesifik kuyucuklarda meydana gelen renk değişmelerine göre identifikasyon, germ sayımı ve antibiyotik duyarlılığı testi yapılmıştır. *Mycoplasma hominis* ve *Ureaplasma urealyticum* ayrımı, test stribi üzerinde herbiri için ayrı olarak bulunan identifikasyon kuyucuklarındaki renk değişimine göre yapılmıştır. Etkenin duyarlı olduğu antibiyotiği içeren kuyucuklarda üremenin olmaması neticesinde renk değişimi olmaması ve ilk ekim alanındaki sarı rengin devam etmesi duyarlılık işareti olarak değerlendirilmiştir. Rengin parlak pembeye döndüğü kuyucuklarda üreme olduğundan etkenin söz konusu kuyucukta bulunan antibiyotiğe dirençli olduğu kabul edilmiştir. Söz konusu testlerde etkenin sayısının belirlenmesinde örnekte bulunan mikroorganizma sayısı ile orantılı olan üre ve/veya arginin hidrolizi derecesi üzerinden hesaplama yapılmış, *M.hominis* ve *U.urealyticum* için sırası ile 10^4 Mycofast CCU/ml ve 10^3 - $\geq 10^5$ Mycofast CCU/ml gibi değerler belirlenmiştir.

Direnç oranlarının karşılaştırılması için istatistiksel analiz "Wilcoxon Signed Ranks Test" kullanılarak gerçekleştirilmiş, $p < 0.05$ değerler anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Bakteri sayısı ile antimikrobiyal maddeye duyarlılık durumu arasındaki ilişki "Pearson Correlation Test" kullanılarak analiz edilmiştir.

BULGULAR

Toplam 461 idrar örneğinin 150'sinde (% 32.5) mikoplasma-üreaplasma üremesi saptanmıştır. Örneklerin 13'ünde (% 2.8) yalnız *M.hominis*, 105'inde (% 22.8) yalnız *U.urealyticum*, 32'sinde (% 6.9) iki mikroorganizma birlikte üremiştir. Bu şekilde 45 örnekte (% 9.8) *M.hominis*, 137 örnekte (% 29.7) *U.urealyticum* varlığı

saptanmıştır.

Pozitif sonuç veren (*M.hominis* ve/veya *U.urealyticum* üreyen) 150 örneğin 7'sinde (% 4.7) doksisisikline, 28'inde (% 18.7) ofloksasine, 35'inde (% 23.3) roksitromisine direnç saptanmıştır (Tablo).

Tablo 1: 461 idrar örneğinden üreyen *M.hominis* ve *U.urealyticum* suşları ve çeşitli antibiyotiklere direnç oranları.

İzolat	Dirençli/üreyen suş sayısı (Dirençli %'si)		
	Doksisisiklin	Ofloksasin	Roksitromisin
<i>M.hominis</i>	2/13 (15.4)	1/13 (7.7)	5/13 (38.5)
<i>U.urealyticum</i>	5/105 (4.8)	17/105 (16.2)	8/105 (7.6)
<i>M.hominis</i> + <i>U.urealyticum</i>	0/32 (0)	10/32 (31.3)	22/32 (68.8)
Toplam	7/150 (4.7)	28/150 (18.7)	35/150 (23.3)

150 pozitif örnekten 80'inde (% 53.3) 10⁵ Mycofast CCU/ml'den fazla bakteri bulunmuştur. Ofloksasin direnci ile örnekteki bakteri sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür (i=0.183, p<0.05). Aynı zamanda doksisisiklin ve ofloksasine direnç arasında korelasyon olduğu saptanmıştır (i=0.218, p<0.05).

TARTIŞMA

M.hominis ve *U.urealyticum* sağlıklı erişkinlerde ürogenital sistemin sık rastlanan flora bakterilerindedir. Bu bakteriler kadınlarda başlıca alt ve üst genital sistemde kolonizasyon ve infeksiyon, nadiren erkeklerde üst genital sistem infeksiyonu ve prostatit yapmaktadırlar. Bu bakterilerin prevalansına yönelik ülkemizde ve dünyada pek çok çalışma bulunmaktadır. Ardıç ve ark.⁽¹⁾ steril lökositürisi olan 73 örnek incelemiş, 28'inde (% 38) *U.urealyticum*, birinde *M.hominis* saptamışlardır. Kılıç ve Akın⁽⁹⁾ 500 hastanın % 63.2'sinde *U.urealyticum* tespit etmişlerdir. Takahashi ve ark.⁽¹⁵⁾ asemptomatik genç erkeklerin idrarlarında % 4 *M.hominis*, % 12 *U.urealyticum* bulmuşlardır. Lilla ve ark.⁽¹⁰⁾'nın aynı kiti kullanarak çocuk hastalarda yaptıkları çalışmada 95 hastanın 22'sinde *U.urealyticum*, 14'ünde *M.hominis*, 10 hastada iki tür birden

saptanmıştır. Çalışmamızda steril pyürili hastalarda ürogenital mikoplazma-üreaplasma prevalansı % 32.5 olarak saptanmıştır. Bu veriler genel popülasyondaki bulgularla uyumlu çıkmıştır.

M.hominis ve *U.urealyticum* ürogenital sistemin alt kesimlerini ve hatta bazen daha yukarı seviyelerini kolonize eden sık rastlanan fırsatçı patojenler olarak karşımıza çıkmakta ve antibiyotiklere duyarlılık paternleri açısından dikati çekmektedirler⁽¹²⁻¹⁴⁾.

Bu çalışmada doksisisiklin, ofloksasin ve roksitromisine direnç pozitif olgularda sırasıyla 7 (% 4.7), 28 (% 18.7) ve 35 (% 23.3) olguda saptanmıştır. Her iki türün de tetrasiklinlere duyarlı olduğu kabul edilmektedir; ancak yüksek düzey tetrasiklin direncine neden olan *TetM* geni-ne sahip artan sayıda izolata rastlanıldığı bildirilmektedir⁽¹⁾.

U.urealyticum genellikle makrolid grubu antibiyotiklere duyarlıyken, *M.hominis* genellikle bu gruba karşı dirençlidir⁽⁸⁾. Çalışmamızda roksitromisine direnç *M.hominis*'de *U.urealyticum*'a oranla daha yüksek oranda bulunmuştur. Tabloda da görüldüğü üzere en yüksek oranda direnç roksitromisine karşı bulunmuştur (% 23.3). Pozitif örneklerde doksisisiklin-roksitromisin ve doksisisiklin-ofloksasin (p<0.05) arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark olsa da roksitromisine ve ofloksasine dirençli bakteri oranları benzer bulunmuştur (p>0.05).

Ürogenital mikoplazma-üreaplasma infeksiyonlarında artan oranlarda saptanan antibiyotik direncine paralel olarak alternatif tedavi stratejileri de gelişmektedir^(2,6,7). Güncel bir çalışmada *M.hominis* ve *U.urealyticum* infeksiyonlarının tedavisinde standart bir haftalık doksisisiklin tedavisi ile tek doz azitromisin tedavisi arasında belirgin bir fark olmadığı gösterilmiştir⁽⁷⁾. Bir başka çalışmada da mikoplazmalara karşı en etkili florokinolon olarak travofloksasin bulunmuş, ancak bu antibiyotik kullanımdan kaldırılmıştır.

Antibiyotik tedavisi ideal olarak izole edilen organizmayı hedef almalıdır. Ancak çoğu zaman kültür alınması mümkün olamamaktadır. Pek çok olguda klinisyenler etken organizmanın identifikasyonundan önce erken antibi-

yotik tedavisine başlamak durumunda kalmaktadırlar. Klinik olarak önemli olan mikoplasma-üreaplasma infeksiyonlarında duyarlılık testleri yapılmasına olanak sağlayan ticari kitler, sınır değer saptanması temeline dayanmaktadır. Bu kitlerde değerlendirme kolaylığı sağlanması açısından ilgili antibiyotiklerin sadece bir ya da iki konsantrasyonu kullanılmaktadır. Bununla beraber alternatif bir yöntem olarak E test başarıyla uygulanabilmektedir⁽¹⁾.

Bu çalışmanın önemli bir sınırlaması hastalara ait klinik verilerin bulunmamasıdır. Ayrıca *M.hominis* ve *U.urealyticum* dışında idrardan izole edilen ürogenital mikoplasma-üreaplasmalar (örneğin *M.genitalium*) araştırılmamıştır. Buna karşılık ofloksasin direnci ile üreyen bakterisi arasında bir ilişki saptanmıştır.

Ürogenital mikoplasma-üreaplasma infeksiyonlarında artan antibiyotik direncinin ciddi klinik sonuçlar doğurabileceği düşünülmektedir. Bu bulguların ışığı altında kültür ve in-vitro duyarlılık testlerinin yaygın olarak yapılmadığı ve söz konusu etkenlerin meydana getirdiği infeksiyonlarda tanının şüpheli kaldığı düşünülebilir. Çalışmamızda steril pyürisi olan ve rutin kültürlerde üremesi saptanmayan hastalarda etken olarak ürogenital mikoplasma-üreaplasma türlerinin akla getirilmesi gerektiği ve bu noktadan hareketle izolasyon, identifikasyon ve duyarlılık testlerine yönelik basit bir yöntemin kullanılabileceği vurgulanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Ardıç N, Özyurt M, Erdemoğlu A, Kurukuyu T: Üriner sistem infeksiyonlarında *Mycoplasma hominis* ve *Ureaplasma urealyticum* araştırılması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi, *İnfeksiyon Derg* 2004;18(1):31-3.
2. Bebear CM, Renaudin H, Charron A, Gruson D, Lefrancois M, Bebear C: In vitro activity of trovafloxacin compared to those of five antimicrobials against mycoplasmas including *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* fluoroquinolone-resistant isolates that have been genetically characterized, *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44(9):2557-60.
3. Daxboeck F, Zitta S, Stadler M, Iro E, Krause R: *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in patients with sterile pyuria, *J Infect* 2005;51(1):54-8.
4. Dosa E, Nagy E, Falk W, Szöke I, Ballies U: Evaluation of the Etest for susceptibility testing of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum*, *J Antimicrob Chemother* 1999;43(4):575-8.
5. Foy H, Kenny G, Bor E, Hammar S, Hickman R: Prevalence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* (T strains) in urine of adolescents, *J Clin Microbiol* 1975;2(3):226-30.
6. Grassi C, De Benedetto F: Recent clinical evidence of the efficacy and safety of thiamphenicol glycinate acetylcysteinate and thiamphenicol glycinate, *J Chemother* 2002;14(3):279-84.
7. Guven MA, Gunyeli I, Dogan M, Ciragil P, Bakaris S, Gul M: The demographic and behavioural profile of women with cervicitis infected with *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* and the comparison of two medical regimens, *Arch Gynecol Obstet* 2005;272(3):197-200.
8. Kenny GE, Cartwright FD: Susceptibilities of *Mycoplasma hominis*, *M.pneumoniae*, and *Ureaplasma urealyticum* to GAR-936, dalfopristin, dirithromycin, evernimicin, gatifloxacin, linezolid, moxifloxacin, quinupristin-dalfopristin, and telithromycin compared to their susceptibilities to reference macrolides, tetracyclines, and quinolones, *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45(9):2604-8.
9. Kılıç H, Akın A: Ürogenital sistem enfeksiyonlarında *Ureaplasma urealyticum* araştırılması, *Mikrobiyol Bül* 1996;30(3):215-25.
10. Lilla L, Edit S, Eva K: Detection of *Mycoplasma* species in urinary tract infections in children, *Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol* 2004;49(1-2):33-6.
11. Roberts MC, Koutsky LA, Holmes KK, LeBlanc DJ, Kenny GE: Tetracycline-resistant *Mycoplasma hominis* strains contain streptococcal tetM sequences, *Antimicrob Agents Chemother* 1985;28(1):141-3.
12. Samra Z, Rosenberg S, Soffer Y: In vitro susceptibility of *Mycoplasma hominis* clinical isolates to tetracyclines, quinolones and macrolides, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;44(4):359-61.
13. Skerk V, Barsic B, Car V, Schönwald S, Klinar I: Comparative analysis of azithromycin and doxycycline efficacy in the treatment of female patients with acute urethral syndrome caused by *Ureaplasma urealyticum*, *J Chemother* 2000;12(2):186-8.
14. Skerk V, Schonwald S, Strapac Z et al: Duration of

- clinical symptoms in female patients with acute urethral syndrome caused by *Ureaplasma urealyticum* treated with azithromycin or doxycycline, *J Chemother* 2000;12(6):533-5.
15. Takahashi S, Takeyama K, Miyamoto S et al: Detection of *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum* DNAs in urine from asymptomatic healthy Japanese men, *J Infect Chemother* 2006; 12(5):269-71.