

STAFİLOKOKLARIN BİYOKİMYASAL TİPLENDİRİLMESİ VE BİLGİSAYAR KULLANIMI

COMPUTERS AND BIOTYPING OF STAPHYLOCOCCI

Özay Arıkan AKAN*, Meral ÖZALP*, Burçin ŞENER*
Murat HAYRAN*, Muzaffer BAYKAL*

Özet: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarında, çeşitli klinik örneklerden izole edilen toplam 90 adet koagülaz negatif stafilocok (CNS), biyokimyasal reaksiyonlar esas alınarak özel bir bilgisayar programı yardımıyla tiplendirilmiştir.

Çalışılan 30 adet püü örneğinde en çok *S.epidermidis* (% 36.7) saptanmış, bunu sırasıyla *S.haemolyticus* (% 20), *S.simulans* (% 13.3) ve *S.hominis* (% 10) izlemiştir. 60 kan izolatında ise yine ön planda *S.epidermidis* (% 40) gelirken bunu *S.haemolyticus* (% 20) ve *S.simulans* (% 10) izlemiştir.

Summary: Ninety coagulase negative staphylococci isolated from various clinical specimens in Clinical Microbiology laboratory of Hacettepe University Faculty of Medicine, were biotyped using a special computer program. Types of 30 strains isolated from pus were found to be *S.epidermidis* (36.7 %), *S.haemolyticus* (20 %), *S.simulans* (13.3 %) and *S.hominis* (10 %) respectively. Among the strains isolated from blood *S.epidermidis* was again the predominant microorganism (40 %), followed by *S.haemolyticus* (20 %) and *S.simulans* (10 %).

G İ R İ Ş

İnsan deri ve mukoza florasının üyesi olan koagülaz negatif stafilocoklar (CNS); son yıllara dek klinik önemi olmayan mikroorganizmalar arasında düşünüldüklerinden, kültürdeki üremeleri kontaminasyon olarak değerlendirilip göz ardı edilmekteydi (1). Bu bakteriler günümüzde; intravasküler kateter, santral sinir sistemi şantı, ortopedik protez ve periton diyaliz infeksiyonlarında, endokardit ve bakteremi vakalarında sıklıkla rastlanan patojenler arasındadır (2). CNS patojenitesinin anlaşılması ve bunlar üzerinde yapılan çalışmalar, alışılmamış bir tür olan *S.epidermidis* ve idrar

* Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı.

kültürlerinde ön plana çıkan *S.saprophyticus*'un yanısıra diğer türlerin de etken olabileceğini göstermiş ve stafilokokların tiplendirilmesine verilen önem artmıştır (3, 4).

Biz bu çalışmada biyokimyasal tiplendirme yöntemini esas alarak, bir bilgisayar programı yardımı ile hastanemizde izole edilen CNS'ları tiplendirdik ve *S.epidermidis* dışındaki tiplere rastlama sıklığını gösterdik.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarında izole edilen ve koagülaz negatif stafilokok olduğu bildirilen 30 adet püy ve 60 adet kan kültürü izolatu tiplendirilmiştir.

Tüm suşların öncelikle katalaz ve tüpte koagülaz reaksiyonları ile Bacitracin duyarlılığı araştırılarak CNS olduğu ispatlanmıştır (5). Suşlar daha sonra Novobiocin direnci, üreaz aktivitesi, maltoz, mannitol, trehaloz ve laktöz fermentasyonu, nitrat redüksiyonu ve arginin hidrolizi açısından değerlendirilmiştir (6).

Sonuçlara göre bakteriler tanımlama tablolarında kullanılan pozitif, negatif ve değişkenlik oranlarından yararlanılarak bileşik olasılık hesaplama yöntemi olan Bayesiyen bilgisayar programı ile tiplendirilmiştir (7, 8, 9).

B U L G U L A R

30 adet püy ve 60 adet kan kültürü tiplendirme sonuçları ve bulunan CNS tipleri tablo 1 ve 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1

Püy İzolatlarının Tiplendirme Sonuçları

Türler	Suş Sayısı	Yüzde
<i>S.epidermidis</i>	11	36.7
<i>S.haemolyticus</i>	6	20.0
<i>S.simulans</i>	4	13.3
<i>S.hominis</i>	3	10.0
<i>S.saprophyticus</i>	1	3.3
<i>S.hyicus</i> sbsp. <i>hyicus</i>	1	3.3
Tiplendirilemeyen	4	13.3

Tablo 2

Kan İzolatlarının Tiplendirme Sonuçları

Türler	Suş Sayısı	Yüzde
<i>S.epidermidis</i>	24	40.0
<i>S.haemolyticus</i>	12	20.0
<i>S.simulans</i>	6	10.0
<i>S.saprophyticus</i>	4	6.7
<i>S.hominis</i>	3	5.0
<i>S.cohnii</i>	3	5.0
<i>S.hycius</i> sbsp. <i>hycius</i>	1	1.7
Tiplendirilemeyen	7	11.7

T A R T I Ş M A

Son yıllara dek kontaminant bakteriler olarak değerlendirilen CNS'lar, günümüzde önemi gitgide artan patojenler olarak ortaya çıkmışlardır (1, 3). En çok intravasküler kateter, periton diyalizi, SSS şanti ve protezik kapak enfeksiyonlarına yol açarlar (3, 10). Çeşitli tipteki kateter ve protezlerin tıpta kullanımlarının artışıyla birlikte, CNS enfeksiyonları da önem kazanmıştır. Genellikle ağrısız seyreden bu enfeksiyonlar, kateter ya da protezin başarısızlığına, dolayısıyla çıkartılmasına yol açarlar (2). 1979 yılından itibaren U.S.A. ve Avrupa'da CNS'e bağlı bakteremi ve sepsis vakaları artmıştır. Bu olguların yanısıra; yine bu mikroorganizmaların yol açtığı protezik kapak ve vasküler graft enfeksiyonlarında, önemli derecede mortalite söz konusudur (12, 13). Antibiyotiklere gösterdikleri çoklu direnç CNS'ların önemini daha da arttırmaktadır (14, 15).

Üriner sistem enfeksiyonlarında ön plana çıkan *S.saprophyticus* bir yana bırakılırsa, CNS'lar arasında en sık rastlanan tipin *S.epidermidis* olduğu görülür. Tiplendirme yöntemlerinin rutinde uygulanabilir hale gelmesiyle birlikte, *S.epidermidis* dışındaki CNS'ların sıklığında artış tespit edilmiştir (1). Bunlar arasında *S.intermedius*, *S.hycius*, *S.haemolyticus*, *S.hominis*, *S.warneri*, *S.saccharolyticus*, *S.cohnii* ve *S.simulans* sayılabilir (6).

Bizim çalışmamızda kan kültürlerinde en sık rastlanan tip olan *S.epidermidis*'i, *S.haemolyticus* izlemiştir. Benzer şekilde kan ve kateter ucu kültürleri üzerinde yapılan bir çalışmada *S.haemolyticus* ve *S.hominis*'in en sık izole edilen epidermidis dışı CNS'lar olduğu bildirilmiştir (11). Çalışılan kan kültürü izolatlarının hepsi etken olan CNS'lar değildir. Elde ettiğimiz sonuçlar muhtemelen deri florasını yansıtmaktadır. Kesin olarak etken

olduğu tayin edilmiş olan suşlarla yapılan daha geniş çaplı bir çalışma, bu konuyu daha iyi aydınlatılabilir.

Püy izolatlarında da; *S. haemolyticus* ve *S. hominis* *S. epidermidis*'ten sonra en sık rastlanan tipler olmuştur.

Stafilokokların tiplendirme yöntemleri arasında biyotiplendirme, sero-tiplendirme, antibiyotik duyarlılık paterni değerlendirilmesi, faj tiplendirilmesi, plazmid profil analizi ve DNA hibridizasyon çalışmaları kullanılır. Hiç bir yöntem ideal sayılmayıp, epidemiyolojik çalışmalarda bunların kombinasyonları kullanılmaktadır. Rutin laboratuvarlarda uygulanan yöntemler, biyotiplendirme ile antibiyotik duyarlılık paternidir (16). Günümüzde hızlı tanı amacıyla biyokimyasal testleri esas alan Micro Scan, API Staph Ident System gibi bazı sistemler geliştirilmiştir (17, 18). Bu yöntemler özel kit ve masraf gerektiren, her an kullanılamayacak yöntemlerdir. Temel bazı biyokimyasal testleri gözönüne alarak geliştirilen ve bilgisayar bulunan her ortamda uygulanabilecek bir program, bize tiplendirmede kolaylık sağlamıştır. Programın güvenilirliğinin ortaya konması için karşılaştırmalı ve kontrol-lü çalışmalarla programın desteklenmesi gerekmektedir.

Hastanemizde *S. epidermidis* dışı CNS'lara azımsanmayacak sıklıkta rastlanmaktadır. Bilgisayar programları Mikrobiyolojide bakterilerin tiplendirilmesi konusunda bize yardımcı ve yol gösterici olabilirler.

KAYNAKLAR

1. Christensen GD: The Confusing and tenacious coagulase-negative staphylococci. *Adv Intern Med*, 32: 117-192, 1987.
2. Archer GD: *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase-negative staphylococci. p. 1511-1518. In Mandell GL (ed), *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 1990, 3rd ed. Churchill Livingstone Inc., New York.
3. Lowdy DF, Hammer SM: *Staphylococcus epidermidis* infections. *Ann Intern Med*, 99: 834-839, 1983.
4. Christensen GD, Parisi JT, Bisno AL, Simpson WA, Beachey EH: Characterization of clinically significant strains of coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol*, 18 (2): 258-269, 1983.
5. Micrococcaceae: *Staphylococci* and *Micrococci*. p. 355-365. In Carson DC (ed), *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*, 1986, 7th ed. The C.V. Mosby Company, Missouri.
6. Kloos WE, Jorgensen JH: *Staphylococci*. p. 143-153. In Lennette EH (ed), *Manual of Clinical Microbiology*, 1985, 4th ed. Amer Soc Microb, Washington DC.
7. Bascomb S: Computers in taxonomy and systematics. p. 65. In Bryant TN (ed), *Computers in Microbiology: A Practical Approach*, 1989, IRL Press, Oxford University.
8. Colton T: *Statistics in Medicine*. 1974, Boston, Massachusetts.

STAFİLOKOK TİPLENDİRMESİ VE BİLGİSAYAR

9. Kloos WE: Systematics and natural history of staphylococci-I. J Appl Bacteriol (Symposium Supplement), p. 25-37, 1990.
10. Bisno AL, Waldvogel FA (ed): Infections associated with Indwelling medical devices. 1989, Amer Cos Microb, Washington DC.
11. Needham CA, Stempsey W: Incidence adherence and antibiotic resistance of coagulase-negative staphylococcus species causing human disease. *Diagnol Microbiol Infect Dis*, 2: 293-299, 1984.
12. Christensen GD: The coagulase-negative Staphylococci: Little brother grows up (editorial). *JAGS*, 35 (5): 469-471, 1987.
13. Martin MA, Pfaller MA, Wenzel RP: Coagulase-negative staphylococcal bacteremia. *Ann Intern Med* 110 (1): 9-16, 1989.
14. Marsik FJ, Brake S: Species identification and susceptibility to 17 antibiotics of coagulase-negative staphylococci isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol*, 15: 640-645, 1982.
15. Schwalbe RS, Stapleton JT, Gilligan PH: Emergence of Vancomycin resistance in coagulase-negative staphylococci isolated from clinical specimens. *N Engl J Med*, 316 (15): 927-931, 1987.
16. Stephenson JR, Tabaqchai S: New Methods for typing Coagulase-negative Staphylococci. *Technical Methods*, p. 1271-1275, 1987.
17. Hussain Z, Stoakes L, Stevens DL, Schieven BC, Lannigan R, Jones C: Comparison of the Microscan System with the API-STAPH Ident System for species identification of coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol*, 23 (1): 126-128, 1986.
18. Christensen GD, Parisi JT, Bisno AL, Simpson WA, Beachey EH: Characterization of clinically significant strains of coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol*, 15: 640-645, 1982.