

VAJİNAL AKINTISI OLAN KADINLARDA MYCOPLASMA HOMINIS VE UREAPLASMA UREALYTICUM SIKLIĞININ VE ANTİMİKROBİYALLERE DİRENÇ DURUMLARININ SAPTANMASIMustafa ALTINDIŞ¹H. Mete TANIR²**ÖZET**

Vajinal akıntılı kadınlarda genital mikoplazma ve ureaplazmaların etken olarak sıklığının belirlenmesi amacıyla yapılan araştırmamızda Uygulama Araştırma Hastanesi Kadın-Doğum polikliniklerine başvuran 40 vajinal akıntılı kadından alınan örnekler MYCOFAST Evolution-2 (International Microbio-Fransa) kitleri ile incelenmiştir. Bunların 18'inde (%45) pozitif sonuç alınmıştır. Yapılan tür ayrımında, *Mycoplasma hominis* 3/40 (%7.5), *Ureaplasma urealyticum* 15/40 (%37.5) oranında pozitif bulunmuştur. Duyarlılık testinde ise üç *M.hominis* suşunun birinde (%33) ofloksasine ve roksitromisine; *U.urealyticum* suşlarının ikisinde (%13) ofloksasine, birinde (%7) ise roksitromisine karşı direnç saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, ürogenital enfeksiyon

DETERMINATION OF THE FREQUENCY AND ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF MYCOPLASMA HOMINIS AND UREAPLASMA UREALYTICUM AMONG WOMEN WITH VAGINAL DISCHARGE**SUMMARY**

In this study, in 40 endocervical specimens taken from patients who attended to Kocatepe University Hospital, Gynecology Clinics with the complaints of genital discharge were assessed by MYCOFAST Evolution-2 (International Microbio-France) test system to determine *M.hominis* and *U.urealyticum*. Eighteen of samples (45%) were detected as positive which were 3/40 (7.5%) *M.hominis* and 15/40 (37.5%) *U.urealyticum*. One of the *M.hominis* strains (33%) was found resistant to ofloxacin and roxytromycine. For *U.urealyticum* strains, antimicrobial resistances to ofloxacin and roxytromycine were detected in 13% and 7% respectively.

Key words: *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, urogenital infection

GİRİŞ

Ureaplasma urealyticum ve *Mycoplasma hominis* hücre duvarına sahip olmamalarına rağmen, canlı hücre dışında çoğalarak hayatlarını sürdürebilen, pleomorfik, gram negatif, fakültatif anaerob, besiyerlerinde sahadanda yumurta

şeklinde tipik küçük koloniler yaparak üreyen, penisiline dirençli mikroorganizmalardır. Ureaplazmalar üremeleri sırasında üreyi metabolize ederken, arjinin ve glikozu kullanmazlar. Üremeleri için optimal ısı 37°C ve pH 6-8 olup

*15. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresinde (5-10 Haziran 2000, Antalya) sunulmuştur.

¹Kocatepe Üniv., Tıp Fak., Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Afyon

²Kocatepe Üniv., Tıp Fak., Kadın Has. ve Doğum ABD, Afyon

Geliş tarihi: 14.07.2000 Kabul ediliş tarihi: 11.05.2001

Yazışma Adresi: Yrd. Doç. Dr. Mustafa ALTINDIŞ, Dumlupınar Mah. Karagözoğlu Sok. Alimoğlu Apt, No:25, 03200-Afyon

%5-10 CO₂'li ortama gereksinim duyarlar (1-4). *U.urealyticum* nongonokokal üretrit, koryoamniyonit, düşük doğum ağırlıklı bebek; *M.hominis* ise piyelonefrit, salpenjit, tubo-ovaryan apse, doğum sonrası ateş ve nadiren de artrit gibi hastalıklara neden olmakta ve her iki bakteri ayrıca infertiliteden ve yenidoğanda solunum sistemi hastalığından sorumlu tutulmaktadır (5-9).

Vulvovajinit, servisit ve pelvik inflamatuvar hastalığın (PID) önemli bir belirtisi olan vajinal akıntı, genitoüriner sistemden en sık izole edilen mikroorganizmalardan olan *M.hominis-U.urealyticum* enfeksiyonunun bir semptomu olabilir. Bu bakterilerin insanlarda meydana getirdikleri hastalıkların önemini ortaya koymak için, izolasyon ve identifikasyonun doğru ve güvenilir bir şekilde yapılması gerekmektedir. Üretilmeleri için çeşitli özel besiyeri formülleri geliştirilmiş olmakla birlikte, bunların hazırlanmasındaki zorluklar ve geç üremeleri gibi sorunlar nedeniyle, çabuk ve daha kolay izolasyon ve identifikasyon için hazır besiyerlerinden, polimeraz zincir reaksiyonu ve bazı hidrolizasyon yöntemlerine kadar birçok test geliştirilmiştir (2,10-14). Son yıllarda ticari olarak piyasaya sunulmuş olan MYCOFAST Evolution-2 (International Microbio-Fransa) kiti ile de sıvı besiyerlerinde ureaplazma ve genital mikoplazmalar daha hızlı bir şekilde saptanabilmektedir (15).

Bu çalışmada, genital şikayetlerle başvuran 40 kadın hastanın endoservikal sürüntü örneğinde *U.urealyticum* ve *M.hominis*'in araştırılmasında Mycofast ticari kitinin etkinlik, izolasyon süresi, kontaminasyon oranı ve maliyeti yönünden değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Kocatepe Üniversitesi, Uygulama Araştırma Hastanesi, Kadın-Doğum polikliniklerine başvuran yaşları 19-47 (ortalama 35.4±14.3) arasında değişen 40 vajinal akıntılı kadından, jinekolojik pozisyonda steril bir spekulum konularak, vajen herhangi bir antiseptikle temizlenmeden, steril eküvyonlu çubukla arka fornixten alınmış örnekler vakit geçirilmeden kitlelere ait transport besiyerlerine (U.M.M.t) aktarılmıştır. *M.hominis* ve *U.urealyticum* gibi ürogenital mikoplazmaları

isimlendirmek, kantitatif olarak miktarlarını vermek ve antibiyotik direncinin araştırılması amacıyla geliştirilmiş olan MYCOFAST Evolution-2 (International Microbio-Fransa) kiti kullanılmış; identifikasyon; içerdiği kimyasalların yanısıra eritromisin, linkomisin ve trimetoprim-sülfametoksazol gibi antibiyotiklere direnç durumlarına göre yapılmıştır. İlk kuyucuklarda substratın hidroliz hızına bağlı olarak *U.urealyticum* için 1,000 ile 100,000>CCU mycofast/ml arasında kantitatif değerler verilmiş, *M.hominis* için yer alan tek kuyucuğun değerlendirilmesi sonucunda ise >10,000 CCU mycofast/ml sonuç alınmıştır. Üremenin az olması durumlarında inkübasyon süresi 48-72 saate çıkarılmış, yine sonuç değişmediğinde negatif sonuç verilmiştir. Aynı kitleler yardımı ile mikoplazmaların doksisisiklin, ofloksasin ve roksitromisine in vitro duyarlılıkları saptanmıştır.

Test prosedüründe; izolasyon besiyeri içeren UMM.lyo. şişelerine transport besiyeri içeriği aktarılmış, homojenize edilmiş, 10 kuyucuktan oluşan standın her kuyucuğuna 100'er µl aktarılmış, dokuz ve onuncu kuyucuklara ikişer damla *M.hominis* solusyonu (S mh) eklenmiş, tüm kuyucuklara ikişer damla parafin yağı ilave edildikten sonra koruyucu bant tekrar kapatılıp 37°C'de 24-72 saat inkübe edilmiştir.

Üreme olduğunda besiyeri rengi sarıdan kırmızıya değişmektedir. *U.urealyticum* identifikasyonu üreyi hidrolize etmesi, linkomisin ve trimetoprim-sülfametoksazole dirençli, eritromisine duyarlı olması ile yapılmıştır. *M.hominis* tanısı ise bu mikroorganizmanın arjinini hidrolize etmesi, trimetoprim-sülfametoksazol ve eritromisine dirençli, linkomisine duyarlı olması ile konulmuştur. Her iki bakteri varlığında ise trimetoprim-sülfametoksazol, eritromisin ve linkomisin kuyucuklarında berrak kırmızı renk varlığı gözlenmiştir. Antibiyogram yorumu ise kuyucuktaki kırmızı rengin direnci, sarı rengin duyarlılığı göstermesi esas alınarak yapılmıştır.

BULGULAR

Vajinal akıntılı kadınların %45'inde (18/40) *Mycoplasma* veya *Ureaplasma* enfeksiyonu

bulunmuş, tür ayrımında *M.hominis* %7.5 (3/40), *U.urealyticum* ise %37.5 (15/40) oranında saptanmış, her iki etkenin beraberce var olduğu bir olguya rastlanmamıştır. Yapılan duyarlılık testinde ise üç *M.hominis* suşunun birinde (%33) ofloksasine ve roksitromisine; 15 *U.urealyticum* suşunun ikisinde (%13) ofloksasine, birinde (%7), roksitromisine karşı direnç gelişimi saptanmıştır.

TARTIŞMA

M.hominis ve *U.urealyticum* enfeksiyonları günümüzde seksüel yolla geçen hastalıklardan kabul edilmektedir (16). Bu mikroorganizmalar klinik örneklerden özel besiyerlerine ekimler yapılarak izole edilebilirlerse de yavaş üremeleri ve besiyerlerinin zor hazırlanması, rutin laboratuvar da tanıyı güçleştirmektedir (10). İdrar örneklerinden daha kolay izole edilebilmekte, sürüntü örneklerinin ise hemen kurumadan ekim yapılması ya da taşıyıcı besiyerlerine konması (etken bir saat içinde canlılığını kaybeder), bu sağlanamayacaksa +4°C'de saklanması gerekmektedir. Direkt inceleme için alınan örnekler, kültür için alınan örneklerden farklı olmamakla birlikte, yeterli sayıda mikroorganizmanın alınmaması riskini beraberinde taşımaktadır. Antijen arama daha çok *M.pneumoniae* için kullanılmakta, DNA-prob testinin ise yaygın kullanımı destekleyecek kadar duyarlı olmadığı bildirilmektedir. PCR duyarlı, özgül ve gelişmiş laboratuvarlar için kullanışlı olabilmektedir (2).

Mikoplazmaların izolasyonu için kullanılan besiyeri; %20 at serumu, %10 taze maya özütü ile desteklenen, tuz, şeker, fetal calf serumu ile zenginleştirilen ve ilk izolasyonda 1000 U/ml penisilin ilavesi ile diğer bazı türlerin inhibisyonunun sağlandığı, sığır kalbi içeren sıvı PPLO (pleuro-pneumoniae-like-organism) vasatıdır. *U.urealyticum* özellikle ortamda %0.002 fenol kırmızısı, %0.1glikoz, %0.1 arjinin ve %0.1 üre olan sıvı besiyerine seri sulandırım ile ekilmektedir; 24-48 saatte renk değişimi yaparak üreyebilirler. Genital mikoplazmalar besiyerlerinde üreaplazmaya göre oldukça büyük, sahanda yumurta görünümü veren koloniler yaparlar. Tiplendirmede üremenin olduğu besiyeri içeriği ve üremenin tipi

yardımcıdır. Örneğin *U.urealyticum* üre içeren besiyerinde bulanıklık oluşturmadan renk değişikliği yaparak ürerken, arjinin içeren besiyerinde minimum değişim *M.hominis*'i düşündürür. *U.urealyticum* ve *M.hominis* daha hızlı ve kolay izolasyon ve identifikasyona yönelik ticari kitler geliştirilmiştir (11,15). Yapılan bazı incelemelerde sıvıların agar besiyerlerine göre daha etkili oldukları, bazılarında ise her iki tür besiyerinin aynı etkinlikte olduğu belirlenmiştir (1,12-14).

Karaaslan ve ark, 90 *U.urealyticum* ve *M.hominis* izolasyonunda A7 agar besiyeri ve Mycofast kitini karşılaştırmışlar; Mycofast ile 50(%55.5) ve A7 agar ile 42 (%46.6) pozitif sonuç alındığını; Mycofast ile bulunan 8 pozitif sonucun A7 agar ile gösterilemediğini, A7 agarda görülen tüm pozitif sonuçların Mycofast ile de saptandığını; Mycofast identifikasyon kitinin, A7 agara göre daha duyarlı olduğunu; Mycofast ile 42 (%84) *U.urealyticum*, 8 (%16) *M.hominis* izole ettiklerini; izolasyon maliyetlerini A7 agar ile 3.7 Amerikan Doları, Mycofast ile 9.1 Amerikan Doları olarak bulduklarını bildirmişlerdir (17). Mycofast'ın daha pahalı olduğu dezavantajı yanında, genital mikoplazmaların tanımlanmasını kolaylaştırılması, bakterilerin antibiyotiklere direnç durumlarını saptanması ve incelenen örnekteki en az 1,000 CCU/ml *U.urealyticum* ve 10,000 CCU/ml *M.hominis*'i gösterebilmesi Mycofast testinin önemli üstünlüklerini oluşturmaktadır.

Bres ve ark, 69 semen, 35 servikal sürüntü, altı, plesanta, beş, idrar ve iki üretral örnekte *M.hominis* ve *U.urealyticum* izolasyonu için klasik agar yöntemi ile Mycofast testini karşılaştırmışlar, Mycofast'ın klasik agar yönteminden daha duyarlı, hızlı ve yorumun kolay olduğunu belirlemişler, ancak beş örnekte kontaminasyona rastladıkları için agar yönteminin kullanılmasını önermişlerdir (18). Kocabeyoğlu ve ark. semen ve idrar örneklerinde, triptic soy broth'un stok solusyonu olarak kullanıldığı at serumu, maya özeti, L-sistein, penisilin G, penol kırmızısı, üre ve arjinin ilavesi ile hazırlanan Shepard'ın modifiye besiyerini kullanarak %17 *U.urealyticum*, %7 oranında *M.hominis* izole ettiklerini bildirmişlerdir (3).

Çalışmamızda Mycofast kiti ile vajinal akıntılı kadınların 18'inde (%45) pozitif mikoplazma enfeksiyonu bulunmuş, yapılan tür ayrımında üç (%7.5) olguda *M.hominis*, 15 (%37.5) olguda ise *U.urealyticum* etken olarak saptanmıştır. Duyarlılık testlerinde üç *M.hominis* suşunun birinde (%33) ofloksasine ve roksitromisine; 15 *U.urealyticum* suşunun ikisinde (%13) ofloksasine, birinde (%7) ise roksitromisine karşı direnç saptanmıştır.

Andiç ve ark. sağlıklı ve vajinal akıntılı kadınlardan alınan 140 örnekte Mycofast kitleri ile yaptıkları tür ayrımında 12 olguda *M.hominis*, 55 olguda ise *U.urealyticum* olmak üzere toplam 67 örnekte (%47.8) genital mikoplazma veya ureaplazma saptamışlar, duyarlılık testinde ise *M.hominis*'de %8.3 ofloksasine, %50'sinde ise roksitromisine; *U.urealyticum*'da %7.2 ofloksasine, %5.4 ise roksitromisine karşı direnç gelişimini bildirmişlerdir (19).

Birinci ve ark. vajinal akıntılı 53 kadında Mycofast kitleri kullanılarak yaptıkları tür ayrımında dört olguda *M.hominis*, 28 olguda ise *U.urealyticum* saptamışlar, duyarlılık testlerinde ise her iki mikroorganizmayı da ofloksasine ve doksisisikline duyarlı, roksitromisine ise %50 oranında dirençli bulmuşlardır (20).

Dündar ve Haşçelik yaşları 20-55 arasında 72'si kadın, 138'i erkek toplam 210 hastanın vajinal-üretral akıntı, idrar, semen örneğini Mycofast yöntemi ile değerlendirmiş, iki olguda *M.hominis*, 61 olguda *U.urealyticum*, 15 örnekte ise her iki etkeni birlikte izole ettiklerini,

yapılan antimikrobik duyarlılık testlerinde ise bir *M.hominis* suşunun doksisisikline, 30 *U.urealyticum* suşundan beşinin siprofloksasine, üçünün tetrasikline (Mycofast Evolution-1); 31 *U.urealyticum* suşundan birinin ise ofloksasine, birinin doksisisikline, 14'ünün ise roksitromisine (Mycofast Evolution-1) dirençli bulduklarını bildirmişlerdir (21).

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden Özkan ve ark. 45 erkek ve 262 kadın hastaya ait üretral ve servikovajinal örnekte genital mikoplazma görülme sıklığını Mycofast Screening Evolution 2 kitleri ile belirlemek amacıyla, üretriti 45 erkek ve vajinal akıntılı 262 kadın hastaya ait örnekleri ile yakınması olmayan 63 kişiden alınan örnekler incelemişler, yakınması olanlarda %19.2 *U.urealyticum*, %5.8 *M.hominis* tek başına; %3.2'inde ise iki mikroorganizmanın birlikte izole edildiğini bildirmişlerdir (22). İzole edilen 49 *U.urealyticum* kökeninde %2 oranında doksisisiklin, %4 oranında ofloksasin ve %20.4 oranında roksitromisin direnci, sekiz *M.hominis* izolatında ise ofloksasin ve doksisisiklin direnci görülmezken, beş kökende roksitromisin direnci bulunmuştur.

Sonuç olarak; vajinal akıntılı hastalarda enfeksiyon etkenleri araştırılırken, genital mikoplazma ve ureaplazmaların da kesinlikle göz ardı edilmemesi gerektiği, ayrıca hastalık etkenlerin mikrobiyolojik olarak doğru tanımlanmasının; doğru tedavi yaklaşımlarının belirlenmesinde ve gereksiz tedavi uygulamalarının önlenmesinde büyük önem taşıdığı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Fiacco V, Miller MJ, Carney E, Martin WJ. Comparison of media for isolation of *Ureaplasma urealyticum* and genital *Mycoplasma species*. J Clin Microbiol 1984; 20: 862-5.
2. Gerçeker D. *Mycoplasma* ve *Ureaplasma*. Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 595-604.
3. Kocabeyoğlu Ö, Yılmaz M, Koşan E. Semen ve idrar örneklerinde *Ureaplasma urealyticum* ve *Mycoplasma hominis* izolasyon sıklığı. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1994; 24: 46-50.
4. Eschenbach BA. *Ureaplasma urealyticum* and premature birth. Clin Infect Dis 1993; 17: 100-6.
5. Waites KB, Cassel GH, Duffy LB, Searcey KB. Isolation of *Ureaplasma urealyticum* from low birth weight infants. J Pediatr 1995; 126: 502-3.

6. Schmind GP, Fontanarosa PB. Evolving strategies for management of the nongonococcal urethritis syndrome. JAMA 1995; 274: 577.
7. Brooks GF, Butel JS, Ornston LN, Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Mycoplasma. In: Jawetz K, Melnick JL, (eds). Adelberg's Medical Microbiology, 20th ed. London: Prendice-Hall International Inc., 1995: 283-7.
8. Payne NR, Steinberg SS, Ackerman P, et al. New prospective studies of the association of *Ureaplasma urealyticum* colonization and chronic lung disease. Clin Infect Dis 1993; 17: 117-21.
9. Unsworth PF, Taylor-Robinson D, Shoo EE, Furr PM. Neonatal mycoplasmaemia: *Mycoplasma hominis* as a significant cause of disease. J Infect 1985; 10: 163-8.
10. Roberts MC, Hooton M, Stamm W, Holmes KK, Kenny GE. DNA probes for the detection of *Mycoplasma* in genital specimens. Israel J Med Sci 1987; 23: 618-20.
11. Robertson JA, Vekris A, Bebear C, Stenke GW. Polymerase chain reaction using 16s rRNA gene sequences distinguishes the two biovars of *Ureaplasma urealyticum*. J Clin Microbiol 1993; 31: 824-30.
12. Phillips LE, Goodrich KH, Turner RH, Faro S. Isolation of mycoplasma species and *Ureaplasma urealyticum* from obstetrical and gynecological patients by using commercially available medium formulations. J Clin Microbiol 1986; 24: 377-9.
13. Broitman NL, Floyd CM, Johnson CA, De La Maza LM, Peterson EM. Comparison of commercially available media for detection and isolation of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis*. J Clin Microbiol 1992; 30: 1335-7.
14. Ledand DS, Lapwort MA, Jones RB, French MLV. Comparative evaluation of media for isolation of *Ureaplasma urealyticum* and genital *Mycoplasma species*. J Clin Microbiol 1982; 16: 709-14.
15. Boucaud-Maitre Y, Thoinet S. Analys des prelevements en bacteriologie medicale-2 partie: prelevements genitaux. Fevil Biol 1993; 190: 21-4.
16. Soffer Y, Raphael RE, Golan A, Herman A, Caspi E, Samra Z. Male genital *Mycoplasma* and *Chlamydia trachomatis* culture: its relationship with accessory gland function, sperm quality and autoimmunity. Fertil Steril 1990; 53: 331-3.
17. Karaaslan A, Cengiz L, Cengiz AT, Aykut E, Boyacıoğlu İ. *Mycoplasma hominis* ve *Ureaplasma urealyticum* izolasyonunuda A7 agar kültür yöntemi ile Mycofast testinin karşılaştırılması. Mikrobiyol Bül 1998; 32: 23-8.
18. Bres P, Gasalta JP, Gilot F, Papierok G, Escarguel C, Raoult D: Comparison of Mycofast test and conventional agar medium for the isolation of mycoplasma and ureplasma. IOM Letters. Program and Abstracts of the 8th International Congress of the IOM, Istanbul-Turkey, 1990: 407.
19. Andiç Ş, Bozkurt H, Zeteroğlu S, Dalkılıç AE, Berktaş M. Vajinal akıntılı kadınlarda *Mycoplasma hominis* ile *Ureaplasma urealyticum* prevalansı ve antimikrobiyal ajanlara duyarlılıkları. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi (3-8 Ekim 1999, Antalya) 1999: 204.
20. Birinci İ, Ayvalıoğlu S, Özcan Ş, Çavuşlu Ş. Vajinal akıntı yakınması olan hastalarda *Mycoplasma hominis* ile *Ureaplasma urealyticum* izolasyon sıklığı ve antibakteriyel duyarlılığı. XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (4-9 Ekim 1998, Antalya) Özet kitabı. 1998: 22-365.
21. Dündar G, Haşçelik G. Genito-üriner sistem enfeksiyonlarında *Mycoplasma hominis* ile *Ureaplasma urealyticum* izolasyonu ve antibakteriyellere karşı duyarlılığı. VIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi (6-10 Ekim 1997, Antalya) Özet kitabı. 1997: 584.
22. Özkan F, Tünger A, Karaca Y, Tunçel M, Tümbay E. Üretral ve servikovajinal örneklerde *Mycoplasma hominis* ve *Ureaplasma urealyticum* bulunma sıklığı. XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (4-9 Ekim 1998, Antalya) Özet kitabı. 1998: 22-323.

ALTINDIŞ, TANIR. VAJİNAL AKINTISI OLAN KADINLARDA *MYCOPLASMA HOMINIS* VE *UREAPLASMA UREALYTICUM*