

Trakya Üniversitesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesinde Burun Taşıyıcılarından İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarında Oksasilin Direnci

Volkan Dündar, Filiz Akata, Cengiz Uzun, Metin Otkun, Fuat Karapınar, Murat Tuğrul

Özet: Oksasiline dirençli *Staphylococcus aureus* (ORSA) suşları hastane infeksiyonlarında giderek artan sıklıkta görülmektedir. ORSA, riskli hastalarda tedavisi zor, ağır infeksiyonlara neden olur. Bu nedenle ORSA infeksiyonları, infeksiyon kontrol çalışmaları açısından, izlenmesi ve çözümlü zor olan önemli bir sorundur. Bu çalışmada Trakya Üniversitesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesi tüm servislerinde bulunan hasta ve hastane çalışanlarının burun sürüntülerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında oksasiline direnç araştırılmıştır. İzole edilen ORSA suşlarının antibiyotik direnç paternine göre tiplendirilmesi sonucu aralarında ilişki kurulmaya çalışılmıştır. Toplam 456 burun sürüntüsünün 151'inden (% 33.1) *S.aureus* suşu izole edilmiştir. İzole edilen *S.aureus* suşlarının dördü (% 2.6) oksasiline dirençli bulunmuştur (ORSA). İki ayrı klinikte birer hemşire ve birer hastada saptanan bu ORSA suşlarının antibiyotiklere direnç paternine göre tiplendirilmesi sonucunda aralarında ilişki kurulamamıştır. Bu nedenle bu suşların ortak kaynaklı olmadığı ve hastane içi bulaşın söz konusu olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu kesitsel tanımlayıcı çalışmada beklenenden az ORSA suşu saptanması; bu suşların sık görüldüğü, hemodiyaliz, yoğun bakım, onkoloji gibi servislerin hastanemizde bulunmamasına bağlanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Oksasiline dirençli *S.aureus*, ORSA, MRSA, burun taşıyıcılığı.

Summary: Oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* in nasal carriers in Trakya University Hospital. *Staphylococcus aureus* strains, which are resistant to oxacillin (ORSA) are increasing progressively in hospital infections. ORSA causes fatal and difficultly cured infections in risky patient. Because of these reasons, the ORSA infections are a big problem, which is difficult to control and solve. In this study, we searched the resistance of the *S.aureus* strains to oxacillin which were isolated from nasal smear of the hospital staff and patients of all the wards in our hospital. We tried to type and correlate the resistant strains with regard to antibiotics resistance pattern. *S.aureus* was isolated 151 (33.1 %) of 456 nasal specimen cultures, Four of the *S.aureus* strains (2.6 %) were found to be resistant to oxacillin (ORSA). These ORSA strains were observed in one patient and one nurse in each of two different clinics. There was no correlation between these strains with regard to the resistance to antibiotics typing pattern, and we concluded that they were not due to the hospital contamination. In this study, our results of determination of ORSA strains were below than the expected level. We concluded that these results were due to the absence of hemodialysis, intensive care unit and oncology wards in which these strains can be found frequently.

Key Words: Oxacillin resistant *S.aureus*, ORSA, MRSA, nasal carriage.

Giriş

Üçüncü basamak hastanelerinin en önemli sorunlarından biri olan oksasiline (metisilin) dirençli *S.aureus* (ORSA veya MRSA) suşları (1-3), gün geçtikçe toplumdan kazanılmış infeksiyonlarda da sorun olarak saptanmaktadır (1,4).

ORSA suşlarının hastane içinde yayılmasında taşıyıcı hastalar ve hastane çalışanlarının rolü bilinmektedir (3,5). Özellikle hastane çalışanları ORSA suşlarını burun ve ellerinde geçici olarak taşımakta ve hastalara elleri ile bulaştırabilmektedir (6-8). ORSA suşlarının neden olduğu hastane infeksiyonlarında infeksiyondan önce kolonizasyonun geliştiği gösterilmiştir (5). Taşıyıcıların vücut florasına kolonize olan ORSA suşlarının rezervuarının burun olduğu kabul edilmektedir (5,9,10). Bu bilgiler riskli hastalarda ve gerektiğinde bu hastaların bakımı ile ilgilenen sağlık çalışanlarında ORSA kolonizasyonun infeksiyondan önce saptanması gerektiğini ortaya koymuştur (5,11).

ORSA suşları uzun süre hastanede yatan politravmatize, immün sistemi baskılanmış, yoğun ve bilinçsiz antibiyotik kullanımına mecbur edilmiş ve benzeri alta yatan hazırlayıcı faktörlerin bulunduğu riskli hastalarda yaşamı tehdit eden infeksiyonlara yol açabilmektedirler (12). Bu infeksiyonlar, bakteriyel in vitro duyarlı bile bulunsa tüm beta-laktam antibiyotiklerle tedaviye dirençlidir (2). Ağır ORSA infeksiyonlarında tek tedavi seçeneği olan vankomisin (2,13) yüksek toksisitesi nedeni ile hastanın varolan risklerini daha da artırmaktadır. ORSA suşlarının yol açtığı hastane

infeksiyonu salgınlarının kontrolü ve hastaların tedavisi sağlığa ayrılan kaynaklardan önemli kayıplara neden olmaktadır (13).

ORSA suşları ile oluşan hastane infeksiyonları ile mücadelede taşıyıcı hasta ve hastane çalışanlarının taramaları erken dönemde saptanması, izole edilen suşların tiplendirilmesi yoluyla bulaş kaynaklarının ve bulaşma yollarının belirlenmesi ve kontrolü önerilen yöntemdir (14,15).

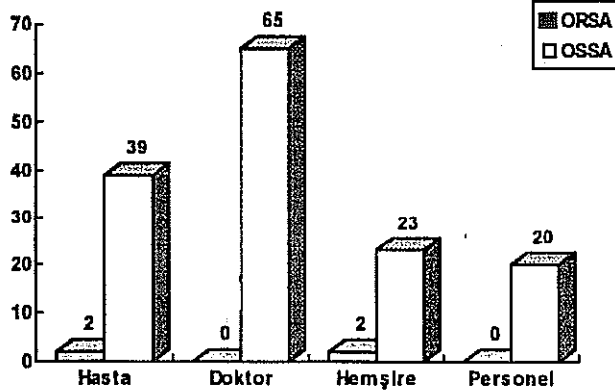
S.aureus suşlarında oksasilin direnci, beta-laktam antibiyotiklere düşük afiniteli penisilin bağlayan protein 2a (PBP 2a) ile olur (16,17). PBP 2a üretimi kromozomal "mec" geni tarafından kodlanır (18). "Mec" geni nükleik asit yapısı bakımından homojen olmasına rağmen direncin fenotipi çoğunlukla heterojendir (19). Deney 37°C'de gerçekleştirildiğinde popülasyonu oluşturan hücrelerden < 10⁻⁷'si direnç göstermektedir (20). Deney koşullarında yapılacak değişiklikler heterojen suşlarda dirençli subpopülasyonun artmasına neden olur (20,21). Heterorezistansın ortaya çıkmasında rol oynayan genetik mekanizmalar henüz açıklığa kavuşmamıştır (22). Ancak mec geninin dışında, muhtemelen beta-laktamaz plazmidinin de rol aldığı değişik düzenleyici faktörlerin direncin ortaya çıkmasında etkisi olduğu öne sürülmektedir (19-25).

Oksasiline heterorezistan direncin tanımlanması mikrobiyoloji laboratuvarlarının önemli bir sorundur. Çeşitli yöntemler önerilmekle birlikte agar tarama, agar yayma, disk difüzyon, agar ve buyyon dilüsyon yöntemleri standardize edilmiştir (19,26,27).

Bu çalışmada Trakya Üniversitesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Kontrol Komitesi çalışmalarına temel oluşturmak amacıyla hastanedeki tüm hasta ve hastane çalışanları *S.aureus* burun taşıyıcılığı yönünden kesitsel olarak taranmış, izole edilen *S.aureus* suşlarının oksasiline direnci disk difüzyon yön-

Tablo 1. *S.aureus* Burun Taşıyıcılığının Hasta ve Hastane Çalışanları Arasındaki Dağılımı

	<i>S.aureus</i> taşıyanlar (%)	<i>S.aureus</i> taşımayanlar (%)	Toplam
Hasta	41 (21.8)	147 (79.2)	188
Doktor	65 (37.8)	107 (62.2)	172
Hemşire	25 (43.8)	32 (56.2)	57
Personel	20 (51.2)	19 (48.8)	39
Toplam	151 (33.1)	305 (66.9)	456



Şekil 1. Oksasiline duyarlı (ORSA) ve oksasiline dirençli (OSSA) *S.aureus* suşlarının hasta ve hastane çalışanları arasındaki dağılımı.

temi ile araştırılmış (19,26), antibiyotik direnç paternine göre tipendirilerek hastane içindeki yayılım özellikleri incelenmeye çalışılmıştır (14,15). Ayrıca ORSA ve OSSA (oksasiline duyarlı *S.aureus*) suşlarının diğer antibiyotiklere direnç oranı karşılaştırılmıştır.

Yöntemler

Trakya Üniversitesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesinde kesitsel bir çalışma ile yatmakta olan tüm hastalar ve hastane çalışanlarının burun sürüntü kültürlerinden izole edilen *S.aureus* suşları incelenmeye alınmıştır.

Burun sürüntü örnekleri, burun ön deliklerinden steril serum fizyolojik ile ıslatılmış pamuklu silgi ile alınmıştır (9). İzole edilen *S.aureus* suşları yağlı alınmış süt içinde -70°C 'de saklanmıştır.

Oksasilin ve diğer antibiyotik duyarlılık deneylerinde stok kültürden % 5 koyun kanı agara art arda iki kez pasaj yapılarak 24'er saat 37°C 'de üretilen suşlar steril serum fizyolojik içinde 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlanmıştır. Eküvyon ile Mueller-Hinton agarına (Difco) yayılmış, disk dispenser (Difco) ile standard antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. Plaklar 35°C 'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnhibisyon zonları yansıyan ışık karşısında milimetrik cetvel ile ölçülerek kaydedilmiş ve daha sonra standard tablodan duyarlılık ve dirençliliği saptanmıştır (26). Kullanılan antibiyotik diskleri (Difco) oksasilin 1 µg, trimetoprim/sulfametoksazol (TMP/SMX) 25 µg, eritromisin 15 µg, siprofloksasin 5 µg, klindamisin 2 µg, rifampisin 5 µg, kloramfenikol 30 µg'dır.

Sonuçlar

Toplam 456 burun sürüntü kültüründen 151'inde (% 33.1) *S.aureus* izole edilmiştir. *S.aureus* nazal taşıyıcılığının hasta ve sağlık çalışanları arasındaki dağılımı Tablo 1'de özetlenmiştir. *S.aureus* taşıyıcılığı en yüksek oranda yardımcı sağlık personeli (% 51.2) ve hemşirelerde (% 43.8) bulunmuştur. Hastalarda taşıyıcılık oranı diğer gruplara göre anlamlı oranda düşük bulunmuş-

tur ($\chi^2=21.33$; $p<0.0001$).

İzole edilen oksasiline duyarlı ve dirençli *S.aureus* suşlarının hasta ve sağlık çalışanları arasındaki dağılımı Şekil 1'de gösterilmiştir. Toplam 4 (% 2.6) suşta oksasilin direnci saptanmıştır. Bu suşların ikisi hastalardan, diğer ikisi ise hemşirelerden izole edilmiştir.

Bu sonuca göre *S.aureus* burun taşıyıcılarında ORSA sıklığı hastalarda % 5, hemşirelerde % 8 bulunmuştur. Nöroşirürji Kliniğindeki bir hasta ve bir hemşireden izole edilen ORSA suşlarının antibiyotik direnç paterni altı antibiyotikten ikisinde uyumsuz sonuç vermiş, Üroloji Kliniğinde bir hasta ve bir hemşireden izole edilen ORSA suşlarının antibiyotik direnç paterni ise yine altı antibiyotikten üçünde uyumsuz sonuç vermiştir. Dört ORSA suşunun altı antibiyotiğe direnç paterni Tablo 2'de gösterilmiştir.

İzole edilen dört ORSA suşunun biri, denenen dört antibiyotiğe, üçü beş antibiyotiğe dirençli bulunmuştur. Dört suşun tamamı hem eritromisine hem de kloramfenikole dirençli bulunmuştur. OSSA suşlarının ise 123'ü (% 83) test edilen beta-laktam dışı altı antibiyotiğe de duyarlı bulunmuş, üç antibiyotiğe dirençli sadece bir suş bulunmuştur. ORSA ve OSSA suşlarının çoğul antibiyotik direnci Şekil 2'de gösterilmiştir.

Hastaların hastanede ortalama \pm standard sapma yatış süreleri 8.94 ± 8.01 (1-58) gün olarak tespit edilmiştir. Yatış süresine paralel olarak *S.aureus* taşıyıcılık oranının artmakta olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($\chi^2=1.89$; $p=0.38$).

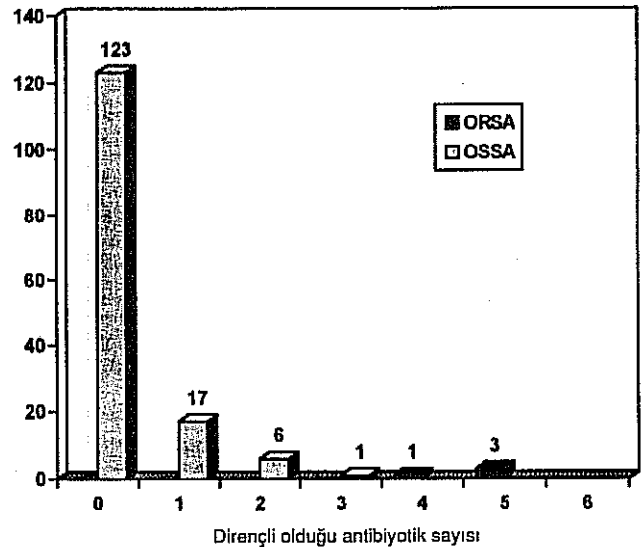
İrdeleme

ORSA suşları hastane infeksiyonlarında giderek artan sıklıkta görülmektedir (1-3). ORSA suşları hastalara hasta ve personelin elleri ile teması sonucunda bulaşmakta (6-8), bulaştığı hastanın

Tablo 2. ORSA Suşlarının Direnç Paterni

Servis	Meslek	Tmp/Smx	E	Sip	Klin	Fil	Klora
Nöroşirürji	Hasta	Duy	Dir	Dir	Dir	Dir	Dir
Nöroşirürji	Hemşire	Dir	Dir	Duy	Dir	Dir	Dir
Üroloji	Hasta	Dir	Dir	Dir	Dir	Duy	Dir
Üroloji	Hemşire	Dir	Dir	Duy	Duy	Dir	Dir

Tmp/Smx: Trimetoprim/Sülfametoksazol, E: Eritromisin, Sip: Siprofloksasin, Klin: Klindamisin, Fil: Rifampisin, Klora: Kloramfenikol. Dir: Dirençli, Duy: Duyarlı



Şekil 2. ORSA ve OSSA'nın antibiyotiklere çoğul direnci.

deri ve daha sonra burun florasına yerleşmektedir (5). Bu kolonizasyondan sonra politravmatize, immün sistemi baskılanmış, yoğun ve bilinçsiz antibiyotik kullanımına maruz bırakılmış ve benzeri altta yatan hazırlayıcı faktörlerin bulunduğu riskli hastalarda yaşamı tehdit eden infeksiyonlara yol açabilmektedir (12). ORSA suşları ile oluşan ağır infeksiyonlarda tek tedavi seçeneği halen vankomisin gibi çok pahalı ve çok toksik bir antibiyotiktir (2,13). Bu nedenlerle infeksiyon kontrol çalışmaları içinde ORSA sürveyansı çok önemli bir yer tutmaktadır (5,11).

Bu kesitsel-tanımlayıcı araştırma İnfeksiyon Kontrol Komitesi çalışmalarına yön vermek üzere Trakya Üniversitesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesinde hasta ve hastane çalışanlarının burun sürüntülerinde (9), ORSA sıklığı ve kaynaklarının saptanması amacıyla yapılmıştır.

S.aureus burun taşıyıcılığı % 33.1 (151 suş), burun taşıyıcılardan izole edilen *S.aureus*'larda ORSA sıklığı ise % 2.6 (4 suş) bulunmuştur. Birçok üçüncü basamak hastanede hasta materyelinden izole *S.aureus*'larda ORSA sıklığı % 25-50 arasında bulunmuş (28-30), burun taşıyıcılığının da % 31 sıklıkta bulunduğu bildirilmiştir (31). Bu çalışmada ORSA sıklığının çok düşük bulunmasının nedenleri arasında bu suşların sıklıkla rastlandığı hemodiyaliz, yoğun bakım, onkoloji gibi servislerin çalışmanın yapıldığı hastanede bulunmaması sayılabilir. ORSA sıklığının düşük bulunmasının ikinci nedeni olarak kullanılan yöntemin duyarlı olmaması öne sürülebilir. Ancak bu çalışmada kullanılan disk difüzyon yöntemi standardize edilmiştir ve diğer yöntemler kadar duyarlı olduğu bildirilmektedir (26). Bunun yanında hastane kökenli ORSA suşlarının beta-laktam dışı antibiyotiklere çoğul direnç gösterdiği bilinmektedir (32,33). Bu çalışmada da ORSA suşlarından biri beta-laktam dışı altı antibiyotikten dördüne, diğer üçü ise beşine dirençli bulunmuştur. ORSA suşlarından % 83'ü ise beta-laktam dışı altı antibiyotikten hiçbirine dirençli değildir ve sadece bir suş üç antibiyotiğe dirençli bulunmuştur. Bu direnç paterni toplum kökenli ORSA suşlarının tipik bir özelliğidir (34). Bu nedenle kullanılan yöntemin ORSA suşlarının saptanmasında yeterli duyarlılıkta uygulandığı kanısına varılmıştır.

Nöroşürji Kliniğindeki bir hemşire ve bir hastadan izole edilen ORSA suşlarının altı beta-laktam dışı antibiyotikten ikisinde, Üroloji Kliniğindeki bir hemşire ve bir hastadan izole edilen ORSA suşlarının ise üçünde uyumsuz sonuç vermesi bu suşların ortak kaynaklı olmadığını ve hastane içi bulaşın söz konusu olmadığını düşündürmektedir. Bu sonuçlardan Trakya Üniversitesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesinde epidemik bir ORSA suşunun halen yerleşmediği, ORSA endemisinin bulunmadığı ve hastalardan izole edilen sporadik ORSA suşlarının da başka kaynaklardan hastaneye geldiği kanısına varılmıştır. Ancak ileride oluşabilecek bir ORSA epidemisini önlemek amacıyla klinik mikrobiyoloji laboratuvarında hastalardan izole edilen tüm stafilokok kökenlerinde oksasilin direncinin titizlikle araştırılması zorunlu olduğu devam etmektedir.

Kaynaklar

1. Brumfit W, Hamilton J. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Medical progress. *N Engl J Med* 1989; 320: 1188-96
2. McDougal LK, Thornsberry C. The role of beta-lactamase in staphylococcal resistance to penicillinase resistant penicillins and cephalosporins. *J Clin Microbiol* 1986; 23: 832-9
3. Duckworth GJ, Lothian JLE, Williams JD. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: report of an outbreak in a London teaching hospital. *J Hosp Infect* 1988; 11: 1-15
4. Levine DP, Cushing RD, Jui J, Brown WJ. Community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* endocarditis in the Detroit Medical Center. *Ann Intern Med* 1982; 97: 330-8
5. Casewell MW. Epidemiology and control of the "modern" methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect* 1986; 7 (Suppl A): 1-11
6. Fekety R. The management of the carrier of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Curr Clin Top Infect Dis* 1987; 8: 169-80
7. Chow JW, Yu VL. *Staphylococcus aureus* nasal carriage in hemodialysis patient. *Arch Intern Med* 1989; 149: 1258-62
8. Coello R, Jimenez J, Garcia M, et al. Prospective study of infection, colonization and carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an outbreak affecting 990 patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13: 74-81
9. Casewell MW, Hill RLR. The carrier state: methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 1986; 18 (Suppl A): 1-12
10. Sanders WE Jr, Sanders CC. Modification of the normal flora by antibiotics. Effects on individuals and the environment. *Contemp Issues Infect Dis* 1984; 1: 217-41
11. Cookson B, Peters B, Webster M, et al. Staff carriage of epidemic methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1471-6
12. Pujol M, Pena C, Pallares R, Ayats J, Ariza J, Gudiol F. Risk factors for nosocomial bacteremia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13: 96-102
13. Lacey RW. Multiresistant *Staphylococcus aureus* a suitable case for inactivity. *J Hosp Infect* 1987; 9: 103-5
14. Goetz MB, Mulligan ME, Kwok R, O'Brien H, Caballes C, Garcia JP. Management and epidemiological analyses of an outbreak due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol* 1988; 26: 189-97
15. Mulligan ME, Murray-Leisure KA, Ribner BS, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. A consensus review of the microbiology, pathogenesis, and epidemiology with implications for prevention and management. *Am J Med* 1993; 94: 313-28
16. Rossi L, Tonin E, Cheng R, Fontana R. Regulation of penicillin binding protein activity. Description of a methicillin inducible penicillin binding protein in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 27: 828-31
17. Hartman BJ, Tomasz A. Expression of methicillin resistance in heterogeneous strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 29: 85-92
18. Hackbarth CJ, Chambers HE. Methicillin resistant staphylococci. Genetics and mechanism of resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 991-4
19. Chambers HF. Methicillin resistant staphylococci. *Infect Dis Clin North Am* 1993; 7: 425-33
20. Coubron PE, Jones DL, Dalton HP, Archer GL. Evaluation of laboratory tests for detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *J Clin Microbiol* 1986; 24: 764-9
21. Hindler JA, Warner NL. Effect of source of Mueller-Hinton agar on detection of oxacillin resistance in *Staphylococcus aureus* using a screening methodology. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 734-5
22. Murakami K, Tomasz A. Involvement of multiple genetic determinants in high level methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 1989; 171: 874-9
23. Chambers HF. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev* 1988; 1: 173-86
24. Hackbarth CJ, Chambers HE. Methicillin resistant staphylococcus detection methods and treatment of infections. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 995-9
25. Tally FP. Staphylococci. Abscesses and other diseases. In: Schachter M, McDoff G, Eisentein BI, eds. *Mechanisms of Microbial Diseases*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1993: 187-97
26. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 4th ed. Approved Standard. NCCLS Document M2-A4. Villanova, Pa: NCCLS, 1990
27. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 2nd ed. Tentative Standard. NCCLS Document M7-T2. Villanova, Pa: NCCLS- 1988
28. Kosmidis J, Polychronopoulou-Karakatsanis C, Milona-Petropoulou D, Mavrogenis N, Xenaki-Kondyri M, Gargalianos P. Staphylococcal infections in hospital. The Greek experience. *J Hosp Infect* 1988; 11: 109-15
29. Cheng AF, French GL. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia in Hong Kong. *J Hosp Infect* 1988; 12: 91-101
30. Morgan MG, Harte-Barry MJ. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a ten year survey in a Dublin hospital. *J Hosp Infect* 1989; 14: 357-62
31. Akgül A, Dündar V, Metin T, Selçuk S. Haydarpaşa Numune Hastane-

- si'nde burun taşıyıcılarından izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında oksasilin direnci. *Ankem Derg* 1992; 6: 14-9
32. Maple PAC, Hamilton-Miller JMT, Brumfitt W. World wide antibiotic resistance in methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 1989; 11: 537-40
33. Brumfitt W. MRSA [Letter]. *N Engl J Med* 1989; 321: 1345
34. Gorzynski EA, Amsterdam D, Beam TR, Rotstein C. Comparative in vitro activities of teicoplanin, vancomycin, oxacillin, and other antimicrobial agents against bacteremic isolates of gram-positive cocci. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 2019-22