

**Klinik Araştırma****Hemşirelerin Burun Sürüntü Örneklerinde Saptanan Staphylococcus Aureus Suşlarının Metisilin Direnci ve Slime Oluşumu****Methicillin Resistance and Slime Production of Staphylococcus Aureus Strains Isolated From Nurse's Nasal Swabs****Ayşe Ece Şener<sup>1</sup>, Eren Çamur<sup>1</sup>, Güngör Çakmakçı<sup>1</sup>, Güzide Ece Akıncı<sup>1</sup>, İrmak Şimşek<sup>1</sup>, İstem Şanal<sup>1</sup>, Ebru Evren<sup>2</sup>**

1. Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Dönem II Öğrencisi

2. Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD.

**ÖZET**

**Amaç:** Hemşirelerin burun sürüntü örneklerinde Staphylococcus aureus varlığı, metisilin direnci ve slime oluşumunun araştırılmasıdır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya 2013 yılında 122 hemşireden alınan burun sürüntü örnekleri dahil edilmiştir. Bakteri türlerinin belirlenmesi için Koyun kanlı agar ve MacConkey agar, slime oluşumu için Kongo kırmızılı agara ekim yapılmıştır. Metisilin direnci CLSI 2012 M100-S21 önerilerine göre disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır.

**Bulgular:** Alınan 122 örneğin 116 (%95)'sında üreme tespit edilmiştir. Üreyen mikroorganizmalar sırasıyla koagülaz negatif stafilocok (KNS) (%91), S.aureus (%2.6), KNS+S.aureus (%2.6), KNS +alfa hemolitik streptokok (%1.7), KNS+K.pneumoniae (%1.7) olarak tespit edilmiştir. S.aureus suşlarından sadece birinde (%17) metisilin direnci görülmüştür. Dört (%66.6) S.aureus suşu slime pozitif olarak tespit edilmiştir. Metisiline dirençli S.aureus suşunda ise slime pozitifliği tespit edilmemiştir.

**Sonuç:** Her türlü enfeksiyon kontrol önlemine rağmen sağlık çalışanlarında metisiline dirençli, slime pozitif S.aureus taşıyıcılığına rastlanmakta ve bu durum hastane enfeksiyonları açısından risk faktörü oluşturmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** stafilocok, burun taşıyıcılığı, metisilin direnci, slime.

**SUMMARY**

**Purpose:** To evaluate the presence of methicillin resistance and slime formation of nasal Staphylococcus aureus strains isolated from nurses.

**Materials and Methods:** 122 nasal swab samples taken from nurses enrolled to this study in 2013. To identify bacterial strains samples were inoculated onto blood agar and MacConkey agar, for slime production, strains were inoculated onto Congo red agar. Methicillin resistance was determined by disc diffusion method according to CLSI 2012 M100-S21 recommendations.

**Results:** Bacterial growth was detected 116 (95%) of 122 samples. The bacteria were coagulase negative staphylococci (CNS) (91%), S.aureus (2.6%), CNS+S.aureus (2.6%), CNS +alpha hemolytic streptococci (1.7%), KNS+K.pneumoniae (1.7%), respectively. Only one S.aureus strain showed methicillin resistance (17%). Four (%66.6) S.aureus strains were slime producers. Methicillin resistant strain showed no slime production.

**Conclusion:** Although several infection control practices, methicillin resistant, slime producing S.aureus strains can be observed. This is a risk factor for nosocomial infections.

**Key words:** staphylococci, nasal carriage, methicillin resistance, slime.

**İletişim Bilgileri****Sorumlu Yazar:** Dr. Ebru Evren**Yazışma Adres:** Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Ankara**Tel:** +90 533 318 20 02**E-posta:** eevren74@yahoo.com**Makale Gönderi:** 26.11.2013 / **Kabul:** 10.02.2014

\* Çalışmanın, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi XV. Çalışma Grupları Sempozyumunda 14-16 Mayıs 2013 tarihinde sözlü sunumu yapılmıştır.

\*\* Bu çalışma Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu tarafından onaylanmış (Proje no:KA 12/284) ve Başkent Üniversitesi Araştırma Fonunca desteklenmiştir.

## GİRİŞ

*Staphylococcus aureus*; toplum ve hastane kökenli enfeksiyonların önemli sebepleri arasında yer almaktadır. Dünya çapında antibiyotik direncinin artışı *S.aureus*'a bağlı enfeksiyonların tedavisini zorlaştırmaktadır. *S.aureus*'un kazanılma riskini nazal taşıyıcılığı olanlar arttırmaktadır (1, 2). Sağlık çalışanlarının cep telefon, stetoskop gibi kullandıkları cihazlarda *Staphylococcus aureus* kolonize olmakla birlikte sıklıkla burun taşıyıcısı olanlar, hastanelerdeki *S. aureus*, özellikle metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) epidemilerinden büyük oranda sorumlu tutulmaktadır. Burunda kolonize olan MRSA'lar, hastanede primer olarak sağlık çalışanlarının ellerinden bulaşmaktadır (3-5). *Staphylococcus aureus*'un nazal taşıyıcılığı stafilokokkal enfeksiyonların patogenezi açısından önemlidir.

Bakteri sıklıkla anterior nareste bulunmakta olup hastane enfeksiyonları açısından rezervuar oluşturmalar. Burun taşıyıcılığı, özellikle epitel bariyeri geçebilen bakterinin, vücudun değişik bölgelerine taşınmasına zemin hazırlamaktadır. Burun taşıyıcılığının mekanizması ve bu taşıyıcılığın nasıl devam ettiği hala tartışmalı bir konudur (6, 7). Özellikle metisilin direnci, tedavi güçlüğü ve yüksek mortalite önemli sebebidir (2). *Staphylococcus aureus*'un pek çok hastalık oluşturma mekanizması olmakla birlikte biyofilm tabaka oluşturması önemli bir özelliğidir. Biyofilm oluşumu, bakterinin ekstrasellüler matriksi olan slime tabakası aracılığıyla yüzeylere tutunması ile başlamaktadır ve enfeksiyon gelişimi açısından önemli bir özelliktir. Bakterinin biyofilm yapısı içerisinde çoğalabilme yeteneği hem antimikrobiallere hem de konak savunmasına dirence yol açmaktadır. Özellikle kateterize olan hastalarda ciddi sağlık sorunlarına yol açmaktadırlar. Metisiline direnç biyofilm fenotipini değiştirebilmektedir (2-8-11). Bu çalışmada hastanede çalışan hemşirelerin burun sürüntü örneklerinde *S. aureus* varlığının araştırılması, bu izolatlarda metisilin direnci ve slime oluşumunun gösterilmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya 2013 yılında Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Ankara Hastanesi'nde çalışan 18 ile 40 yaşları arasında, yoğun bakım ve çeşitli servislere çalışan gönüllü 122 hemşireden alınan burun sürüntü örnekleri dahil edilmiştir. Bu çalışma Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu tarafından onaylanmıştır (Proje no:KA 12/284). Örnek alınmadan önce her hemşireye bilgilendirilmiş onam formu onaylatılmıştır. Örnek, her iki burun deliğinden steril eküvyon ile alınmıştır, transport besiyerine aktararak laboratuvara ulaştırılmıştır. Örnekler; %5 Koyun kanlı agar, MacConkey agar besiyerlerine ekilerek, 37 °C'de 24 saat inkübasyon sonrası değerlendirilmiştir. Kanlı agarda *Staphylococcus spp.* ve Gram negatif bakteri varlığı, MacConkey agar-

da ise Gram negatif bakteri varlığı değerlendirilmiştir. Kanlı agarda beta hemoliz yapan, beyaz ve/veya altın sarılı pigmentli koloniler, Gram boyama, katalaz ve koagülaz testleri ile değerlendirilmiştir. Katalaz ve koagülaz testleri pozitif Gram pozitif suşlar *S.aureus* olarak tipendirilmiştir. *Staphylococcus aureus* haricindeki mikroorganizmaların identifikasyonu için konvansiyonel yöntemler kullanılmıştır (Gram pozitif mikroorganizmalar için; Gram boyama, katalaz testi, koagülaz testi, Gram negatif mikroorganizmalar için Gram boyama, oksidaz testi, TSI besiyerine ekim, IMVIC testleri) Metisilin direnci CLSI 2012 M100-S21 önerilerine göre disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. İzole edilen suşlar Mac Farland 0.5 bulanıklık standardına göre süspansiyon haline getirilerek Mueller Hinton agar besiyerine (Becton Dickinson, ABD) ekilmiştir (12). Oksasilin(1 µg) (Oxoid, İngiltere) ve sefoksitin (30 µg) (Oxoid, İngiltere) diskleri konularak 37° C'de 24 saat inkübe edilmiştir.

Oksasilin diski için ≤10 mm, sefoksitin diski için ≤21 mm zon çapı saptanan suşlar dirençli olarak kabul edilmiştir. Slime yapımını araştırmak için Kongo Kırmızılı agar yöntemi kullanılmıştır (13). Besiyerine tek koloni düşecek şekilde yapılan ekimler 37° C'de bir gece inkübe edildikten sonra, koloniler incelenerek koyu kırmızı-siyah renkte olanlar slime pozitif, pembe renkli olanlar ise slime negatif olarak değerlendirilmiştir. Her ekimde besiyerinin kontrolü amacıyla slime pozitif (*S.epidermidis* ATCC 35984) ve slime negatif (*S.aureus* ATCC 29213) standart suşlar kullanılmıştır. İstatistiksel değerlendirme: Yaş değişkeni normal dağılım göstermediği için, yaş bakımından cinsiyet grupları Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. Kategorik verilerin analizinde olabilirlik oran testi (Likelihood ratio) kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi p<0,05 olarak kabul edilmiştir. Veri analizi SPSS 17,0 istatistik paket programı (SPSS, Version 17, Chicago IL, USA) ile yapılmıştır. Üreyen *S.aureus* suş sayısı istatistiksel açıdan az olduğu için hipotez kontrolü yapıp 'p' değeri verilememiştir. *S.aureus* varlığı, metisilin direnci ve slime oluşumuna ait veriler tanımlayıcı istatistiklerle ifade edilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmaya dahil olan hemşirelerin %88'i kadın, %12'si erkek olup cinsiyet ile mikroorganizma varlığı arasında istatistiksel bir ilişki bulunmamıştır (p=0,259). Toplam yaş ortalaması 24,7 olup, erkeklerle kadınlar arasında yaş dağılımı bakımından istatistiksel bir fark bulunmamıştır (p=0,373). Alınan 122 örneğin 116 (%95)'sında üreme tespit edilmiş olup örneklerin 6'sında (%5) *S.aureus* üremiştir. *S.aureus* haricinde üreyen mikroorganizmalar arasında koagülaz negatif stafilokok (KNS) (%91), KNS+*S.aureus* (%2,6), KNS +alfa hemolitik streptokok (%1,7) ve KNS+*K.pneumoniae* (%1,7) bulunmaktadır (Tablo 1).

Üreyen mikroorganizma	n	%
KNS	106	91,4
S.aureus	3	2,6
KNS*+S.aureus	3	2,6
KNS+AHS**	2	1,7
KNS+K.pneumoniae	2	1,7
TOPLAM	116	100

**Tablo 1:** Burun sürüntü örneklerinde üreyen mikroorganizmaların sayısı (n) ve yüzdeleri (%)

\* KNS: Koagülaz Negatif Kuagülaz

\*\* AHS: Alfa hemolitik streptokok

Örneklerin alındığı servislere göre hemşire sayı ve yüzdeleri Tablo 2’de yer almaktadır. Servisler “yoğun bakım ve diğerleri” olarak sınıflandırıldığı zaman her iki grupta da en fazla üreyen bakteri KNS olarak tespit edilmiştir. Burun sürüntü örneklerinde S.aureus izole edilen hemşirelerin bulunduğu birimler kadın hastalıkları ve doğum, yoğun bakım, özel servis, dahiliye servisi, erişkin acil olup, MRSA yoğun bakımda çalışan hemşirenin burun sürüntü örneğinden izole edilmiştir. Mikroorganizmaların servislere göre dağılım durumları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,626). Üreme saptanan 116 örneğin altında (%5) S.aureus izole edilmiş olup sadece bir tanesinde metisilin direnci (%17), beşinde (%83) slime pozitifliği tespit edilmiştir. Slime oluşumu, metisiline direnç görülen izolatta negatif olarak tespit edilmiştir.

	n	%
Çocuk acil	8	7
Dahiliye	9	7
Erişkin Acil	14	11
Kadın doğum	6	5
Üroloji	11	9
Kalp Damar Cerrahi	10	8
Ortopedi	8	7
Pediyatri	7	6
Pediyatrik Kalp Damar Cerrahi	4	3
Radyoloji	1	1
Transplantasyon	2	1
Özel servis	18	15
Yoğun Bakım	24	20
TOPLAM	122	100

**Tablo 2:** Burun sürüntü örnekleri alınan hemşirelerin servislere göre dağılım sayı ve yüzdeleri.

## TARTIŞMA

Stafilokok türleri, bakteri kaynaklı hastane enfeksiyonlarının önemli sebeplerinden birisidir. Stafilokoklar içerisinde önemli bir grubu S.aureus oluşturmaktadır. Antibiyotik dirençli stafilokoklar özellikle metisiline direnç gösterenler hastane kaynaklı enfeksiyonların asıl nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu enfeksiyonlar, morbidite ve mortalite açısından önem

kazanmaktadır. Bakteriler sağlık çalışanlarının özellikle deri ve burun mukozasında kolonize olarak nozokomiyal enfeksiyonlar için risk faktörü oluşturmaktadır (14, 15). Sağlık çalışanları ile genel popülasyon arasında S.aureus burun taşıyıcılığı açısından anlamlı bir fark tespit edilmemekle birlikte sağlık çalışanlarda özellikle doktor ve hemşirelerde riskin daha yüksek olduğu bildirilmektedir (16-20). Çalışmamızın verilerine göre hemşirelerde tespit edilen burunda S.aureus taşıyıcılık oranı %5’tir. Bu oran Türkiye ve dünya verilerine göre daha düşüktür. Bu durumun örneklem grubumuzun sayısının diğer çalışmalara oranla daha az olmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. MRSA oranları 2008 EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System) verilerine göre Avrupa’da ülkeden ülkeye farklılık göstermektedir. Yapılan çalışmalarda Türkiye’de  $\geq$  %25 direnç olduğu bildirilmektedir (21). Diğer çalışmalarda MRSA oranları irdelendiği zaman; 2004 yılında İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi’nde yapılan çalışmada 144 S.aureus suşunun 59’unda (%41) metisilin direnci tespit edilmiştir (22). Arabacı ve Oldaçay (23) ise bu oranı %42 olarak bildirmektedirler.

Çalışmamızın sonuçlarına göre 6 S.aureus suşunun sadece birinde (%17) metisilin direnci saptanmıştır. Stafilokokların virülans faktörleri çeşitlilik göstermekle birlikte slime tabakaları ile yüzeylere tutunabilme ve sonrasında biyofilm oluşturabilme yetenekleri özellikle hastanede yatan hastalarda kateterle ilişkili enfeksiyon riskini arttırmaktadır (7). Epidemiyolojik çalışmaların çoğunda slime yapımı ile virülans arasında ilişki olduğu bulunmuştur. Çalışmaların çoğunda MRSA’larda slime yapımı daha yüksek oranda tespit edilirken aksi yönde veriler de mevcuttur. Ayrıca metisilin direnci saptanan suşlarda biyofilm oluşturan gen bölgelerindeki genetik kontrol mekanizmalarının daha farklı olduğu bildirilmektedir (2-25-26). Jones ve arkadaşları (24) slime yapan ve yapmayan stafilokoklarda metisilin direncinin farklılık göstermediğini bildirmiştir. Yaşar ve arkadaşları (27) ise slime yapımı olmayan suşlarda metisilin de dahil daha yüksek antibiyotik direnci saptamıştır. Çalışmamızda metisiline dirençli S.aureus suşunda slime yapımı tespit edilmemiştir. Ayrıca, üreyen S.aureus suş sayısı yetersiz olduğu için veri analizi yapılamamış olup slime yapımı ile metisilin direnci arasında istatistiksel bir ilişki kurulamamıştır. Slime oluşumunun tespiti; tüp metodu, doku kültür metodu, Kongo red agara ekim gibi çeşitli yöntemlerle tespit edilebilmekte olup, bu yöntemlerin içerisinde Kongo red agara ekim basit, ucuz, teknik deneyime çok fazla ihtiyaç göstermemektedir. S.aureus, hem toplum kaynaklı hem de hastane kaynaklı enfeksiyonların önemli bir sebebi olmaya devam etmektedir. Özellikle sağlık çalışanları, etkenin bulaşmasında önemli role sahiptir. Antibiyotiklere dirençli S.aureus suşlarının gün geçtikçe artıyor olması endişe vericidir.



## SONUÇ

Sonuç olarak, sağlık çalışanları, burunda *S.aureus* taşıyıcılığı açısından risk oluşturmaktadır. Her ne kadar çalışmamızda bulunan *S.aureus* taşıyıcılık oranları daha önceki çalışmalarda bulunan oranlara göre daha düşük tespit edilse bile varlığının devam etmesi sağlık çalışanlarının *S.aureus* burun taşıyıcılığı açısından taranması gerektiğini düşündürmektedir.

## REFERANSLAR

1. Wertheim HFL, Melles DC, Wos MC et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis Rev* 2005; 5:751-62.

2. Pozzi C, Waters EM, Rudkin JK et al. Methicillin Resistance Alters the Biofilm Phenotype and Attenuates Virulence in *Staphylococcus aureus* Device-Associated Infections. *PLoS Pathogens* 2012; 8:1-15.

3. Fıfşırma İA, Bektaş M, Kimyon U, Ergin Ç. Steteskoaplarda metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* kolonizasyonunun araştırılması. *Pam Tıp Derg* 2011;4:116-118.

4. Öztürk R, Ertop M, Parça O, Ergin Ç. Hastane personellerinin cep telefonlarında *Staphylococcus aureus* kolonizasyonunun araştırılması. *Pam Tıp Derg* 2013;6(1):18-21

5. Gündüz T, Akgül S, Aktaş E, Saçar T. Sağlık yükseköğrencilerinde nasal *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığı. *Pam Tıp Derg* 2008;1(2):82-83.

6. Belkum AV, Verkaik NJ, Vogel CP et al. Reclassification of *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage Types. *J Infect Dis* 2009; 199:1820-1826.

7. Archer NK, Mazaitis MJ, Costerton JW, Leid JG, Powers ME, Shirtliff ME. *Staphylococcus aureus* biofilms: Properties, regulation and roles in human disease. *Virulence* 2011; 2(5):445-459.

8. Podbielska A, Galkowska H, Stelmach E et al. Slime Production by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* Strains Isolated from Patients with Diabetic Foot Ulcers. *Arch. Immunol. Ther. Exp* 2010; 58:321-24.

9. Thurlow LR, Hanke ML, Fritz T et al. *Staphylococcus aureus* biofilms prevent macrophage phagocytosis and attenuate inflammation in vivo. *J Immunol* 2011;186(11): 6585-96.

10. Kiedrowski MR, Horswill AR. New approaches for treating staphylococcal biofilm infections. *Ann N Y Acad Sci* 2011;1241:104-21.

11. Rezaei M, Moniri R, Mousavi SGA et al. Prevalence of Biofilm Formation Among Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* Isolated From Nasal Carriers. *Jundishapur J Microbiol* 2013;6(6):e9601.

12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement M100-S22. CLSI, Wayne, PA, USA, 2012.

13. Mariana NS, Salman SA, Neela V, S. Zambari S. Evaluation of modified Congo red agar for detection

of biofilm produced by clinical isolates of methicillin-resistance *Staphylococcus aureus*. *Afr J Microbiol Res* 2009; 3(6):330-338.

14. Sırmatel F, Zeyrek F.Y., Erkmen O., Hastane Kökenli Stafilokok Suşlarında Mikrodilüsyon Yöntemi ile Antibiyotiklere Direncin Belirlenmesi. *Ankem Der* 2004; 18:200-204.

15. Boucher HW, Corey GR. Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *CID* 2008; 46:344-9.

16. Olsen K, Sangvik M, Simonsen GS et al. Prevalence and population structure of *Staphylococcus aureus* nasal carriage in healthcare workers in a general population. *The Tromsø Staph and Skin Study. Epidemiol Infect* 2013; 141(1):143-52.

17. Malini J, Shrutti AH, PadMavathy M., et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Carriage among the Health Care Workers in a Tertiary Care Hospital. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 2012; 6(5): 791-793.

18. Aridoğan A., Atasever L., Bal Ç. Klinik Örneklerden İzole Edilen *S.aureus* Suşlarının Antibiyotiklere Dirençleri. *Türk Mikrobiyol Cem Der* 2004; 34:20-23.

19. Çelik İ., Cihangiroğlu M., Sevim E., Çabalak M., Akbulut A. Sağlık Çalışanlarının Burunlarından İzole Edilen Koagülaz Pozitif ve Negatif Stafilokoklarda Metisilin Direnci ve Slime Pozitifliği. *Fırat Tıp Derg* 2005, 10: 123-26.

20. Kantarcıoğlu A.S., Yücel A. Hasta refakatçi ve ziyaretçilerinden elde edilen Koagülaz Negatif Stafilokoklarda Metisiline Direnç ve Bunun Slaym Faktör Üretimi İle İlişkisinin Araştırılması. *Ankem Der* 2002; 16:52-55.

21. Sancak B. MRSA direnç mekanizmaları: Dünyada ve Türkiye'de Epidemiyolojisi, *Ankem Der* 2012; 26(Ek 2):38-47.

22. Aridoğan A., Atasever L., Bal Ç. Klinik Örneklerden İzole Edilen *S.aureus* Suşlarının Antibiyotiklere Dirençleri. *Türk Mikrobiyol Cem Der* 2004; 34:20-23.

23. Arabaci F.E., Oldacay M. Sağlık Çalışanlarının Burun Kültürlerinden İzole Edilen Stafilokoklarda Metisilin Direnci ve Slime Yapımı Pozitifliği. *Infek Der* 2008;22:165-68.

24. Jones JW, Scott RJD, Morgan J, Pether JVS. A study of coagulase negative staphylococci with reference to slime production, adherence, antibiotic resistance patterns and clinical significance. *J Hosp Infect* 1992;22(3): 217-27.

25. O'Neill E, Pozzi C, Houston P et al. Association between methicillin susceptibility and biofilm regulation in *Staphylococcus aureus* isolates from device-related infections. *J Clin Microbiol* 2007; 45(5):1379-88.

26. Zhou S, Chao X, Fei M, Dai Y, Liu B. Analysis of *S. Epidermidis* *icaA* and *icaD* genes by polymerase chain reaction and slime production: a case control study. *BMC Infectious Diseases* 2013, 13:242.

27. Yaşar K, Bilir YA, Pehlivanoğlu F, Şengöz G. Stafilokok suşlarında slaym faktör pozitifliği, metisilin ve antibiyotik direnci. *Ankem Der* 2011;25: 89-93.