

## Sağlık Çalışanlarının Burunlarından İzole Edilen Koagülaz Pozitif ve Negatif Stafilocoklarda Metisilin Direnci ve Slime Pozitifliği

İlhami ÇELİK<sup>a,1</sup>, Mustafa CİHANGİROĞLU<sup>2</sup>, Erol SEVİM<sup>1</sup>, Mehmet ÇABALAK<sup>1</sup>, Ayhan AKBULUT<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Anabilim Dalı, ELAZIĞ

<sup>2</sup>Ergani Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, DİYARBAKIR

### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmada, sağlık çalışanlarının burunlarında metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve koagülaz negatif stafilocok taşıyıcılık oranı ve bu suşlarda metisilin direnci ile slime oluşumu arasında ilişki olup olmadığının irdelenmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Steril eküvyonlu çubuklarla 118 hastane çalışınının her iki burun mukozalarından alınan sürüntü kültürleri %5 koyun kanlı agara ekilerek 35 °C'de 24 saat inkübe edildi. Koloni morfolojisi ve Gram boyama ile stafilocok olarak tanımlanan suşlar için koagülaz testi yapıldı. Metisilin direnci (oksasilin direnci) NCCLS önerilerine göre disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Slime oluşumu Kongo Red Agar plak yöntemiyle araştırıldı.

**Bulgular:** İzole edilen suşların 37'si (%31,4) *S. aureus* ve bunların %35.1'i metisiline dirençli iken KNS suşlarında metisilin direnci %59.3 idi (p=0.015). *S. aureus* suşlarında slime pozitiflik oranı %73, KNS suşlarında %65.4 idi (p=0.4). Cerrahi kliniklerde çalışmanın MRSA taşıyıcılığı için bir risk faktörü olduğu saptandı (%23.1'e karşı %76.9, r= 0.48, %95 güvenlilik aralığı: 0.196-0.768, p=0.002).

**Sonuç:** Metisiline dirençli stafilocoklarda slime oluşturma potansiyeli oldukça yüksek oranda saptandı. Slime oluşturan suşlarda metisilin direncinde artış gözlenmedi ancak MRSA taşıyıcılık oranının oldukça yüksek düzeyde olduğu göz önüne alınırsa hastane enfeksiyonlarının kontrolü için yapılan eğitimlerin sürekliliğine ve MRSA eradikasyonu için uygulanabilir ve kalıcı çözümlere ihtiyaç vardır. ©2005, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

**Anahtar kelimeler:** Burun taşıyıcılığı, MRSA, slime

### ABSTRACT

#### Methicillin Resistance and Slime Positivity of Coagulase Negative and Positive Staphylococci Isolated From Nares of Healthcare Workers

**Objectives:** It was aimed to detect the prevalence of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and Coagulase negative staphylococci (CoNS) of the healthcare personnel in our hospital and if any relation with slime production and methicillin resistance in these strains.

**Materials and Methods:** Specimens for culture were collected from the anterior nares from healthcare personnel with sterile cotton swabs. The nasal swabs were cultured on 5% sheep blood agar plates and incubated at 37°C for 24-hour. Coagulase tests were performed for the strains identified with colony morphology and Gram staining.

The susceptibilities of the isolates to oxacillin were determined by the disk diffusion method according to National Committee for Clinical Laboratory Standards. Slime production was investigated by Congo Red Agar plate method.

**Results:** When thirty-seven (31.4%) of the isolated strains were *S. aureus*, and 35.1% of these were methicillin-resistant, methicillin resistance was 59.3% for CoNS (p=0.015). Slime positivity was 73% at *S. aureus* strains, and 65.4% for CoNS (p=0.4). It was detected a risk factor that studying at surgical departments (%23.1 vs. %76.9, r= 0.48, %95 CI: 0.196-0.768, p=0.002).

**Conclusion:** The potential of slime production was observed higher at MR staphylococci. No methicillin resistance was observed at slime produced species, but it was observed a high prevalence rate of MRSA carriage. Thus, it proposes that it needs to continuing education for hospital infection control and applicable and permanent solution for eradication of MRSA. ©2005, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

**Key words:** Nasal carriage, MRSA, slime

Uygun antibiyotik tedavisine rağmen stafilocoklar hastane kaynaklı enfeksiyonların başta gelen nedenlerinden biri olup özellikle metisiline dirençli suşlar tedavisi güç, morbidite ve mortalitesi yüksek enfeksiyonlara yol açarlar (1). Stafilocoklar (*S. aureus* ve KNS) kan akımı enfeksiyonlarının yaklaşık 1/3'ünden sorumlu olup nazal mukozada kolonize olurlar. Kan akımından izole edile *S. aureus*'ların yaklaşık %80'inin klonal olarak burundan izole edilenlerle aynı olduğu gösterilmiştir (2). *S. aureus* sıklıkla yara enfeksiyonu, osteomyelit, endok-

endokardit ve sepsise yol açarken, koagülaz negatif stafilocoklar (KNS) yabancı cisim enfeksiyonu ve nozokomiyal bakteremilerde ilk sıralarda yer almaktadır (3).

Çoğul dirençli (metisiline dirençli) *S. aureus* ve *S. epidermidis* genellikle hastanede yatan hastaların ve hastane personelinin deri ve burun mukozasında kolonize olurlar ve nozokomiyal enfeksiyonlar için birer rezervuar görevi görürler. Ayrıca antibiyotik direnç genlerinin diğer stafilocok ve bakterilere transferinde rol alırlar (4-6).

Stafilokoklar yabancı materyallere yapışıp tedavisi güç infeksiyonlara yol açmaktadır (7). Slime maddesi; bakteriyi fagositoz ve degranülasyondan korur, kemotaksis ve opsonositofagositozu önler, nötrofillerin etkisini önler ve lenfosit aktivitesini azaltır. Slime oluşumunun antibiyotiklerin etkisini önleyici bir fonksiyonu olduğu bildirilmektedir (8, 9).

Bu çalışmada, hastane çalışanlarının burunlarından izole edilen *S. aureus* ve KNS suşlarında metisilin direnci ve slime oluşumunun saptanması ile slime pozitifliğinin metisilin direncine etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlandı.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya alınan 118 hastane çalışmanın her iki burun mukozasından beyin-kalp infüzyon buyyona batırılmış steril eküvyonlu çubuklarla sürüntü kültürü alındı. Örnekler %5 koyun kanlı agar ekilerek 35 °C'de 24 saat inkübe edildi. Koloni morfolojisi dikkate alınarak stafilokok olarak tanımlanan suşlar için Gram boyama, katalaz ve EDTA'lı plazma kullanılarak koagülaz testi yapıldı.

Mikroorganizmaların slime oluşturma özellikleri Kongo kırmızılı agar yöntemi kullanılarak araştırıldı. Kongo kırmızılı besi yeri litrede 10 g agar, 50 g sukroz, 37 g beyin-kalp infüzyon buyyonu ve 0.8 g Kongo kırmızısı içerecek şekilde hazırlandı. Bu besiyerlerine tek koloni düşecek şekilde yapılan ekimler 37°C'de bir gece inkübe edildi, koyu kırmızı-siyah koloni oluşturan kökenler slime pozitif, pembe koloni oluşturanlar ise slime negatif olarak değerlendirildi (10).

Metisilin (oksasilin) direnci NCCLS önerilerine göre disk diffüzyon yöntemi kullanılarak saptandı (11). İzole edilen suşların 0.5 Mc Farland bulanıklık standardına uygun olarak (108 bakteri/mL) steril serum fizyolojik içinde çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltiler %4 NaCl içeren Mueller-Hinton (Oxoid) besiyerlerine ekildi. 1 µg oksasilin (Oxoid) diski konularak 35 °C'de 24 saat inkübe edildi. 11 mm'nin altında zon çapı saptanan suşlar dirençli olarak kabul edildi. Kontrol suşu olarak *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. epidermidis* ATCC 35984 (American Type Culture Collection, Rockville, Md.) kökenleri kullanıldı.

İstatistiksel analiz için ki kare testi ile lineer regresyon analizi kullanıldı.

## BULGULAR

Çalışmaya katılmayı kabul eden sağlık çalışanlarının 73'ü erkek (%61.9), 45'i kadın (%38.1); 55'i (%46,6) doktor, 19'u (%16,1) hemşire, 32'si (%27,1) hastabakıcı ve 12'si (%10,2)

laboratuar teknisyeni idi. Çalışanların 65'i (%55.1) dahili, 53'ü (%44.9) cerrahi kliniklerde çalışmaktaydı. İzole edilen suşların 81'i (%68.6) KNS, 37'si (%31.4) *S. aureus* idi. Cerrahi kliniklerde çalışmanın MRSA taşıyıcılığı için bir risk faktörü olduğu saptandı (cerrahi=%76.9'e karşı dahili: %23.1;  $r=0.48$ , %95 güvenirlilik aralığı: 0.196–0.768,  $p=0.002$ ). MRSA suşlarında slime pozitifliği açısından da farklılık saptanmadı ( $p=0.06$ ). Dahili kliniklerinde çalışanlardan izole edilen 44 KNS suşunun 18'i, cerrahi kliniklerde çalışanlardan izole edilen 37 KNS suşunun ise 22'si metisiline dirençli idi. Dahili kliniklerde çalışanlardan izole edilen 21 *S. aureus* suşunun 3'ü metisiline dirençli iken cerrahi kliniklerde çalışanlardan izole edilen 16 *S. aureus* suşunun ise 10'u metisiline dirençli olarak bulundu. Dahili kliniklerde çalışan personelden izole edilen KNS suşlarının 25/44'ü (%56.8) slime pozitifken, cerrahi kliniklerde bu oran 28/37 (%75.7) idi. Dahili kliniklerde çalışan personelden izole edilen *S. aureus*'ların 18/21'i (%85.7) slime pozitifken, cerrahi kliniklerde bu oran 9/16 (%56.3) idi.

Doktorlardan izole edilen stafilokokların %76.4'ü, hemşirelerden izole edilen suşların %26.3'ü, hastabakıcılardan izole edilen suşların %78.1'i, teknisyenlerden izole edilen suşların ise %66.7'si slime pozitifti.

İzole edilen suşların 37'si (%31.4) *S. aureus* idi ve bunlarında 13'ü (%35.1) metisiline dirençli idi. Bu beş suşun 4'ü (%30.8) doktorlardan 4'ü (%30.8) hemşirelerden, 5'i (%38.5) hastabakıcılardan izole edildi. KNS suşlarının 48/81'i (%59.3) metisiline dirençli iken *S. aureus* suşlarının 13/37'ü (%35.1) metisiline dirençli idi ( $p=0.1$ ). İzole edilen 37 *S. aureus* suşunun 27'sinde (%73), 81 KNS suşunun 53'ünde (%65.4) slime oluşumu pozitifti ancak iki suşun slime oluşturma oranı arasında anlamlı farklılık yoktu ( $p=0.4$ ). Slime oluşturan *S. aureus* suşlarının 7/27'si (%25.9) metisiline dirençli iken, slime oluşturan KNS'lerin %54.7'si (29/53) metisiline dirençli olarak saptandı. Slime pozitif KNS'lerde gözlenen metisilin direnci (%60.4) slime negatif KNS'lerden (%53.8) farklı değildi ( $p=0.3$ ). Slime pozitif 80 stafilokok suşunun 44'ü (%55) metisiline duyarlı, 36'sı (%45) dirençli iken slime negatif 38 suşun 25'i (%65.8) metisiline dirençli, 13'ü (%34.2) duyarlı idi. (Tablo 2). Sime oluşturan KNS'ların 29/53'ü (%54.7) metisiline dirençli iken, 24'ü (%45.3) duyarlı idi ( $p=0.9$ ). Slime pozitif 27 *S. aureus*'un ise 20'si (%74.1) metisiline duyarlı, 7'si (%25.9) dirençli idi (Tablo 1).

KNS ve *S. aureus* suşlarında slime oluşumunun metisilin direncinde artışa yol açmadığı gözlemlendi (KNS için:  $r=0.127$ ,  $p=0.26$ , *S. aureus* için:  $r=0.317$ ,  $p=0.056$ ).

**Tablo 1.** Slime oluşturan ve oluşturmayan stafilokok türlerinde metisilin duyarlılık durumu

	Metisilin	Stafilokok türü (Sayı, %)		Toplam
		KNS	<i>S. aureus</i>	
Slime Pozitif	Duyarlı	24 (54.5)	20 (45.5)	44
	Dirençli	29 (80.5)	7 (19.5)	36
Slime Negatif	Duyarlı	9 (69.2)	4 (30.8)	13
	Dirençli	19 (76.0)	6 (24.0)	25

## TARTIŞMA

Slime oluşturan bakterilerde antibiyotik duyarlılığı konusu son yıllarda dikkat çekici bir konu haline gelmeye başlamıştır (10-12). Diaz-Mitoma ve arkadaşları (13). antibiyotik başarısızlığı ile slime üretimi arasında doğrudan bir ilişki olduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde ayakta periton diyalizi uygulanan hastalarda oluşan peritonitlerde tedavi başarısızlığında slime üretiminin etkili olduğu bulunmuştur (14). Çoğu yazar slime üretimi ile patojenik kökenler arasında epidemiyolojik bir ilişki olduğu konusunda görüş birliği içerisinde (13, 15).

KNS suşlarında slime yapımı gerçek bir patojenlik kriteri olarak kabul edilmektedir. Bir çalışmada slime faktör sıklığı ile enfeksiyon oluşturma potansiyeli arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır (16). Yine cerrahi yoğun bakım ünitelerindeki 190 tıbbi personelin burun boşluklarında saptanan *S. epidermidis* kökenlerinin %72.2'sinde slime üretimi gözlenmiştir (17). Yapılan diğer çalışmalar metisilin direncinin slime faktör yapan suşlarda daha fazla olduğunu göstermiştir (18-20). Amerona ve ark (21) *S. aureus* suşları ile yaptığı bir çalışmada biyofilm varlığının antibiyotiklerin etkinliğini azalttığını yazmışlardır. Ammendolia ve ark. (22) slime üreten *S. aureus* suşlarının prostetik materyal enfeksiyonlarından daha fazla sorumlu olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada *S. aureus* suşlarında slime pozitiflik oranı %73.3, KNS suşlarında %65.4 idi. Dahili ve cerrahi kliniklerde çalışma ile MRSA taşıyıcılığı ve burun KNS kolonizasyonu ile

MRSA pozitif ve metisiline dirençli KNS suşlarında slime pozitifliği açısından farklılık saptanmadı. Slime pozitifliğinin hem *S. aureus* ve hem de KNS suşlarında metisilin direncinde artışa yol açmadığı gözlemlendi. Tüm slime pozitif suşların %45'i metisiline dirençli idi ve metisilin direnci slime negatif suşlardan farklı değildi.

Burun MRSA taşıyıcılık oranını Eveillard ve ark. (23) Kuveyt'te %6.2, Cespedes ve ark. (24) Amerika Birleşik Devletlerinde %19.7, Scudeller ve ark. (25) İtalya'da %1.12, Cesur ve Çokca (26) ise Ankara'da %6 olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise burun MRSA taşıyıcılık oranı %35.1 olarak saptandı. Cerrahi alan, kan dolaşımı ve kateter enfeksiyonları başta olmak üzere hastane enfeksiyonlarında önemli bir etken olan MRSA için burun taşıyıcılığının önemli bir risk faktörü olduğu göz önünde tutulursa çalışmamızdaki oran diğerlerinden oldukça yüksektir.

Sonuç olarak hastane personelinin burunlarından izole edilen stafilokok suşlarında slime pozitifliğinin oldukça yüksek olduğu ancak bunun metisilin direncinde artışa yansımadağı saptandı. Ancak, MRSA taşıyıcılığı ve burun KNS kolonizasyonu oldukça yüksek oranlarda saptandı. Bu türlerin kan akımı ve prostetik materyal enfeksiyonlarından sorumlu olduğu dikkate alınırca sağlık çalışanlarının enfeksiyon kontrol önlemlerine uyumda son derecede titiz davranmaları ve burun MRSA taşıyıcılığı için kontrol önlemlerinin artırılmasına ve MRSA eradikasyonu için uygulanabilir ve kalıcı çözümlere ihtiyaç vardır.

## REFERENCES

- Fluit AC, Schmitz FJ, European SENTRY Participant Group and J. Verhoef. Frequency of isolation of pathogens from bloodstream, nosocomial pneumonia, skin and soft tissue, and urinary tract infections occurring in European patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;20:188-191.
- von Eiff C, Becker C, Machka K, Stammer H, Peters G. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *N Engl J Med* 2001; 344:11-16.
- Domenico P, Baldassari L, Schoch PE, et al. Activities of bismuth thiols against *Staphylococci* and *Staphylococcal* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1417-1421.
- Archer GL, Climo MW. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:2231-2237.
- Kluytmans J, Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev* 1997;10: 505-520.
- Shuter J, Hatcher VB, Lowy FD. 1996. *Staphylococcus aureus* binding to human nasal mucin. *Infect Immun* 64:310-318.
- Arciola CR, Campoccia D, Gamberini S, Donati ME, Montanaro L. Presence of fibrinogen-binding adhesin gene in *Staphylococcus epidermidis* isolates from central venous catheters-associated and orthopaedic implant-associated infections. *Biomaterials* 2004;25:4825-9.
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg, E.P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999; 284: 1318-22.
- Boussard P, Pithsy A, Devleeschuwer MY. Relationship between slime production, antibiotic sensitivity and the phagetype of coagulase-negative staphylococci. *J Clin Pharm Ther* 1993; 18:271.
- Domingue G, Ellis B, Dasgupta M, Costerton JW. Testing antimicrobial susceptibilities of adherent bacteria by a method that incorporates guidelines of the National Committee for Clinical Laboratory Standards. *J Clin Microbiol* 1994;32, 2564-8
- Brandt CM, Rouse MS, Tallan BM, Laue NW, Wilson WR, Steckelberg JM. Effective treatment of cephalosporin- rifampicin combinations against cryptic methicillin-resistant  $\beta$ -lactamase-producing coagulase-negative staphylococcal experimental endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39, 1815-19.
- Dunne WM, Mason EO, Kaplan SL. Diffusion of rifampicin and vancomycin through a *Staphylococcus epidermidis* biofilm. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37, 2522-6.
- Diaz-Mitoma F, Harding GKM, Hoban DJ, Roberts RS, Low DE. Clinical significance of a test for slime production in ventriculoperitoneal shunt infections caused by coagulase-negative staphylococci. *J Infect Dis* 1987;156:555-560.
- Freeman DJ, Falkiner FR. Coagulase-negative staphylococci and continuous peritoneal ambulatory dialysis. *Rev Med Microbiol* 1991; 2:98-104.
- Kristinsson KG, Spencer RC, Brown CB. Clinical importance of production of slime by coagulase-negative staphylococci in chronic ambulatory peritoneal dialysis. *J Clin Pathol* 1986;39:117.
- Nourizadeh E, Sultan N. Koagülaz-negatif stafilokoklarda slaym (slime) faktör yapımının çeşitli yöntemlerle gösterilmesi. *İnfeksiyon Derg* 1993;7:31.
- Bal Ç, Aydın MD, Ang Ö. Tıp personelinde stafilokok kolonizasyonu. *İnfeksiyon Derg* 1997;11:237.

18. Baussard P, Pithsy A, Devleeschowwer M J. Relationship between slime production, antibiotic sensitivity and the phagotype of coagulase-negative staphylococci. J Clin Pharm Ther 1993;18:271.
19. Chisena S, Marconato R, Cantoni G, Zappa M, Inzaghi A, Pasargiklian I, Mas Ranzi ML, Longo T. Importance of *Staphylococcus epidermidis* in the bacterial colonization of abdominal drains in surgical patients. Minerva Chir 1991;46:269.
20. Elçi S, Gül K, Ögel F, Suay A, Mete Ö. Koagülaz negatif stafilokoklarda slime oluşumunun ve antibiyotik direncinin saptanması. İnfeksiyon Derg 1996;10:203.
21. Amorena B, Gracia E, Monzon M, Leiva J, Oteiza C, Perez M, Alabart JL, Hernandez-Yago J. Antibiotic susceptibility assay for *Staphylococcus aureus* in biofilms developed in vitro. J Antimicrob Chemother 1999;44:43-55.
22. Ammendolia MG, ROSA rd, Montanaro L, Arciola CR, Baldassari L. Slime production and expression of the slime-associated antigen by staphylococcal antigens. J Clin Microbiol 1999;37:3235-3238.
23. Eveillard M, Martin Y, Hidri N, Boussougant Y, Joly-Guillou ML. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among hospital employees: prevalence, duration, and transmission to households. Infect Control Hosp Epidemiol 2004; 25: 114–20.
24. Cespedes C, Miller M, Quagliarello B, Vavagiakis P, Klein RS, Lowy FD. Differences between *Staphylococcus aureus* isolates from medical and nonmedical hospital personnel. J Clin Microbiol 2002;40: 2594–7.
25. Scudeller L, Leoncini O, Boni S, Navarra A, Rezzani A, Verdirosi S, Maserati R. MRSA carriage: the relationship between community and healthcare setting. A study in an Italian hospital. J Hosp Infect 2000; 46: 222–9.
26. Cesur S, Cokca F. Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among hospital staff and outpatients. Infect Control Hosp Epidemiol 2004; 25:169–71.

Kabul Tarihi:05.07.2005