

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

YOĞUN BAKIM ÜNİTESİ HASTALARINDA MRSA
TAŞIYICILIĞININ ERKEN SAPTANMASI VE
ERADİKASYONUNUN NOZOKOMİYAL MRSA ENFEKSİYON
HIZINA VE TEDAVİ HARCAMALARINA ETKİSİ

Dr. Özlem SANCİ

Tıbbi Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR

2010

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

YOĞUN BAKIM ÜNİTESİ HASTALARINDA MRSA
TAŞIYICILIĞININ ERKEN SAPTANMASI VE
ERADİKASYONUNUN NOZOKOMİYAL MRSA ENFEKSİYON
HIZINA VE TEDAVİ HARCAMALARINA ETKİSİ

Dr. Özlem SANCİ

Tıbbi Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
Prof.Dr. Gül DURMAZ

ESKİŞEHİR

2010

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Özlem SANCI'ye ait "Yoğun Bakım Ünitesi Hastalarında MRSA taşıyıcılığının erken saptanması ve eradikasyonunun nozokomiyal MRSA enfeksiyon hızına ve tedavi harcamalarına etkisi" adlı çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: / ... / 2010

Jüri Başkanı Prof. Dr.Gül DURMAZ
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr.Filiz AKŞİT
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Üye Doç. Dr. Abdurrahman KİREMİTÇİ
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun
...../...../2010 Tarih ve/..... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zübeyir KILIÇ
Dekan

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, her konuda rahatlıkla ulaőıp danıőtıđım değerli hocam Prof.Dr. Göl DURMAZ'a, uzmanlık eğitimim süresince yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof.Dr. Filiz AKŞİT'e, Prof.Dr.Yurdanur AKGÜN'e, Prof.Dr Tercan US'a, Doç.Dr. Nihal DOĞAN'a, Doç.Dr. Abdurrahman KİREMİTÇİ'ye, Yrd.Doç.Dr. Nilgün KAŐİFOĐLU'na, çalışma bulgularının istatistiksel değerlendirilmesindeki yardımlarından dolayı Halk Sağlığı Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof.Dr. Selma METİNTAŐ'a, yardım ve destekleri için teşekkür ederim.

ÖZET

Sanci, Ö. Yoğun Bakım Ünitesi Hastalarında MRSA Taşıyıcılığının Erken Saptanması ve Eradikasyonunun Nozokomiyal MRSA Enfeksiyon Hızına ve Tedavi Harcamalarına Etkisi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2010. MRSA önemli bir nozokomiyal enfeksiyon etkenidir. YBÜ'leri ise MRSA enfeksiyonlarının en çok saptandığı birimlerdir. Morbidite, mortalite oranı yüksektir ve tedavisi direnç nedeniyle uzun ve pahalıdır. MRSA taşıyıcılığı nozokomiyal MRSA enfeksiyonu için önemli bir risk faktörüdür. MRSA kolonizasyonunun erken saptanması ve eradikasyonu MRSA enfeksiyonlarının kontrolünde en önemli basamaktır. Bu çalışmada, hastanemizde nozokomiyal MRSA enfeksiyonlarının en fazla görüldüğü Beyin Cerrahisi ve Genel Cerrahi YBÜ'lerinde yatan hastalarda MRSA taşıyıcılığının erken saptanması ve eradike edilmesinin MRSA enfeksiyon hızına ve tedavi harcamalarına etkisi araştırılmıştır. Çalışma, Aralık 2009 Temmuz 2010 tarihleri arasında yapıldı ve 306 hastadan, YBÜ'ne kabulde ve haftada bir kez nazal ve aksiller sürüntü örnekleri alındı. Real-time PCR (altın standart), disk difüzyon yöntemi (oksasilin ve sefoksitin), oksasilin agar tarama, kromojenik agar ve lateks aglütinasyon testleri çalışıldı. Hastaların YBÜ'lerine kabulünün ilk 48 saati içinde 19 MRSA kolonizasyonu saptandı. PCR ile 2 saat içinde MRSA taşıyıcılığı saptanan hastalara topikal mupirosin uygulandı ve hastalar 4 hafta takip edildi. Topikal mupirosin uygulanan tüm hastalarda taşıyıcılık eradikasyonu sağlandı. MRSA kolonizasyonu ile MRSA enfeksiyonu arasındaki ilişki anlamlı bulundu ($p<0.05$). PCR testi ile fenotipik testlerin sonuçları istatistiksel olarak uyumlu bulundu. Sonuç olarak çalışmamızda, MRSA enfeksiyon hızının yüksek olduğu bölümlerde MRSA taşıyıcılığının erken saptanması ve eradikasyonunun MRSA enfeksiyon hızını azaltabileceği, real-time PCR yönteminin kullanılmasının MRSA enfeksiyonundan kaynaklanan mali yükün yanında göz ardı edilebileceği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: MRSA taşıyıcılığı, YBÜ, PCR, hızlı tanı, enfeksiyon

Destekleyen Kurum: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, proje no: 200811030

ABSTRACT

Sanci, Ö.The effect of rapidly detection and eradication of MRSA carriage in two intensive care units upon nosocomial MRSA infection rates and treatment costs. Eskisehir Osmangazi University, Faculty of Medicine, Medical Speciality Thesis in Department of Medical Microbiology, Eskisehir, 2010. MRSA is an important cause of nosocomial infection and ICU's are the most important units MRSA detected. Morbidity and mortality rates are high in MRSA infection .MRSA infection treatment is long and expensive because of resistance. MRSA carriage is an important risk factor for nosocomial MRSA infection. Rapidly detection and eradication of MRSA colonization is the most important step in the control of nosocomial MRSA infections. MRSA infection is most commonly seen in the general surgery and neurosurgery ICU's in our hospital. This study was investigated the impact of the rapidly detection and eradication of MRSA carriage in ICU to MRSA infection rate and treatment costs. The study was performed between December 2009 and July 2010. Nasal ve axillary swabs were taken from 306 patients. Swabs of the patient were tested with real-time PCR (gold standart), DDT (oxacillin and cefoxitin), oxacillin agar screen, chromogenic agar and latex agglutination. 19 patients had MRSA colonization following admitted to ICU in 48 hours. Patients with MRSA colonization detected by PCR in 2 hours were applied topical mupirocin and followed for 4 weeks. The carriage was eradicated in all patients who applied topical mupirocin. The relationship between carriage of MRSA and MRSA infection was found significant ($p<0.05$). Real-time PCR test and the phenotypic test results were consistent statistically. In conclusion, reduction of MRSA infection rate was detected with rapidly detection and eradication of MRSA carriage in units that MRSA infection rate is high. In addition in this study it was found that using of real-time PCR can be ignored beside the financial burden arising from MRSA infection.

Key Words: MRSA carriage, ICU, PCR, rapidly detection, infection

Supported by: Eskisehir Osmangazi University, project no: 200811030

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Sınıflandırma	4
2.3. <i>S.aureus</i> 'un Morfoloji ve Biyokimyasal Özellikler	4
2.3.1. Mikroskopi ve Boyanma	4
2.3.2. Üreme ve Kültür Özellikleri	4
2.3.3. Hücre Yapısı	5
2.3.4. <i>S.aureus</i> 'un Biyokimyasal Özellikleri	6
2.4. <i>S.aureus</i> 'un Virulans Faktörleri	6
2.5. Antibiyotik Duyarlılığı ve Direnç Gelişimi	10
2.5.1. Beta-laktam Antibiyotik Direnci	10
2.5.2. Kinolon Direnci	16
2.5.3. Vankomisin Direnci	16
2.6. Metisilin Dirençli Staphylococcus	16
2.7. MRSA Epidemiyolojisi	17
2.7.1. Prevalans ve İnsidans	17
2.7.2. Bulaşma ve Geçiş	18
2.7.3. Coğrafi Dağılım	20
2.7.4. Mevsimsel Dağılım	20
2.7.5. Yaş	20

	Sayfa
2.7.6. Cinsiyet	21
2.7.7. Irk	21
2.7.8. Meslek Grupları	21
2.7.9. Sosyoekonomik Faktörler	21
2.8. MRSA Patogenez ve İmmünite	21
2.8.1. Nonspesifik İmmün Yanıt	21
2.8.2. Spesifik İmmün Yanıt	21
2.8.3. İnvaziv MRSA Enfeksiyonları İçin Konağa Ait Risk Faktörleri	22
2.9. MRSA Klinik	22
2.9.1. Nozokomiyal MRSA	22
2.9.2. Toplum Kaynaklı MRSA	23
2.10. MRSA Tanı	24
2.10.1. Disk Difüzyon	25
2.10.2. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi	25
2.10.3. Agar Tarama	25
2.10.4. E-Test	25
2.10.5. Lateks Aglutinasyon	26
2.10.6. Kromojenik Yöntemler	26
2.10.7. Moleküler Yöntemler	26
2.11. MRSA Enfeksiyonlarında Kullanılan Antimikrobiyal Ajanlar	27
2.11.1. Nozokomiyal MRSA	27
2.11.2. Toplum Kaynaklı MRSA	29
2.12. MRSA Enfeksiyonlarından Korunma	30
2.12.1. Nozokomiyal MRSA	30

	Sayfa
2.12.2. Toplum Kaynaklı MRSA	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1. Hasta Popülasyonu ve Surveyans Kültürlerinin Alınması	34
3.2. Gereçler	34
3.2.1. Malzemeler	34
3.2.2. Cihazlar	35
3.2.3. Besiyerleri	35
3.3. Yöntemler	36
3.3.1. <i>S.aureus</i> İdentifikasyonu	37
3.3.2. Metisilin Direncinin Tespiti	38
3.4. İstatistiksel Değerlendirme	43
4. BULGULAR	44
4.1. MRSA Kolonizasyonunu Saptamada Kullanılan Testlerin ve MRSA Enfeksiyonu Tedavi Harcamalarının Maliyeti	52
4.2. Genel Cerrahi ve Beyin Cerrahisi YBÜ'lerindeki MRSA Enfeksiyon Hızları	52
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
KAYNAKLAR	65
EKLER	
EK 1: MRSA Takip Formu	

SİMGELER ve KISALTMALAR

ARDS	Akut respiratuar distres sendromu
ATCC	American Type Culture Collection
CAMP	Christie Atkins Munch Peterson
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CRF	Coagulase reacting factor
DNA	Deoksiribonükleik asit
DNase	Deoksiribonükleaz
EARSS	European Antimicrobial Resistance Surveillance System
EDTA	Ethylene diamine tetraacetic acid
Fem	Factors essential for resistance to methicillin
FDA	Food and Drug Administration
HICPAC	Hospital Infection Control Practices Advisory Committee
HIKK	Hastane Enfeksiyon Kontrol Komitesi
HK-MRSA	Hastane kaynaklı MRSA
KNS	Koagülaz negatif stafilokok
KOAH	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
MHA	Mueller Hinton agar
MHB	Mueller Hinton broth
MİK	Minimal inhibitör konsantrasyon
MLST	Multi-lokus sequence typing
MRSA	Methicillin resistance <i>Staphylococcus aureus</i>
MSCRAMM	Microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules
MSSA	Methicillin sensitive <i>Staphylococcus aureus</i>
NAMA	N-asetil muramik asit
NHIS	National Healthcare-associated Infections Surveillance
PBP2a	Penisilin bağlayan protein2a
PCR	Polymerase chain reaction

PFGE	Pulsed-field gel electrophoresis
pTSAg	Pirojenik toksin süper antijenler
PVL	Panton-Valentin lökositidin
RSHM	Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi
SCC	Staphylococcal cassette chromosome
SSSS	Staphylococcal scalded skin syndrome
ST	Sekans tipi
TK-MRSA	Toplum kaynaklı MRSA
TMP-SMZ	Trimetoprim sulfametoksazol
TSST-1	Toksik şok sendromu toksini-1
VISA	Vankomycin intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
VRSA	Vankomycin resistance <i>Staphylococcus aureus</i>
YBÜ	Yoğun bakım ünitesi

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. <i>mec</i> gen kompleksinin dört sınıfı	12
2.2. <i>ccr</i> gen kompleksinin yapısı	13
3.1. Klinik örneklerden <i>S.aureus</i> tanımlaması ve metisilin direncinin belirlenmesi için laboratuvar standart uygulama prosedürleri	37
4.1. Kromojenik agarda yeşil renkte MRSA kolonileri	49
4.2. Lateks aglütinasyon testinde, MRSA suşlarının oluşturduğu aglütinasyon	49

TABLOLAR

	Sayfa
2.1. <i>S.aureus</i> 'un virulans faktörleri	10
2.2. SCC <i>mec</i> tiplerinin izole edildikleri yıl ve ülkeye göre dağılımı	14
3.1. Lateks Aglutinasyon Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi	40
3.2. Smart Cyclers cihazında test sonuçlarının yorumlanması	43
4.1. İlk 48 saat içinde <i>S.aureus</i> kolonizasyonu saptanan hastaların yattıkları yoğun bakım ünitelerine ve kolonizasyon bölgelerine göre dağılımı	44
4.2. İlk 48 saat içinde MRSA kolonizasyonunun risk faktörlerine göre karşılaştırılması	45
4.3. İlk 48 saat içinde <i>S.aureus</i> kolonizasyonu saptanmayan hastaların surveyans kültür sonuçları	46
4.4. MRSA enfeksiyonu saptanan ve saptanmayan hastaların özelliklerinin karşılaştırılması	48
4.5. Real-time PCR sonucu ile fenotipik test sonuçları farklı saptanan 7 suşa ait test sonuçları.	50
4.6. MRSA saptanmasında kullanılan 5 fenotipik yöntemin sonuçlarının real-time PCR sonuçlarıyla karşılaştırılması.	51
4.7. MRSA saptanmasında kullanılan yöntemlerin PCR testine göre prediktif değerleri.	51

1.GİRİŞ

Staphylococcus aureus nozokomiyal enfeksiyonların önemli etkenlerindedir. Deri, yumuşak doku, solunum sistemi ve üriner sistem bu mikroorganizmanın kolayca yerleşerek enfeksiyona neden olduğu bölgelerdir. *S.aureus* enfeksiyonları, yaşamı tehdit eden komplikasyonlara ve yüksek mortalite oranına yol açabilmesi nedeniyle halen önemli bir sorun olma özelliğini korumaktadır (1-4).

Son yıllarda metisiline dirençli *S.aureus* enfeksiyonlarının görülme sıklığı artmıştır (1, 2, 3). *Staphylococcus aureus*'da metisiline direnç ilk olarak 1960'lı yıllarda saptanmış, 1980'lere gelindiğinde ise MRSA (Methicilin resistance *Staphylococcus aureus*) suşlarının etken olduğu nozokomiyal epidemiler önemli bir sorun oluşturmaya başlamıştır. Bu epidemiler, artmış mortalitenin yanı sıra büyük bir mali yükü de beraberinde getirmektedir. MRSA izolatlarında beta-laktam dışı antibiyotiklere karşı da yüksek düzeyde direnç görülmesi, gelişen enfeksiyonların tedavisini güçleştirmektedir (5, 6).

Direnç probleminin artmasıyla birlikte MRSA tüm dünyada nozokomiyal epidemilere yol açan ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir (7). Tek tedavi seçeneği olarak glikopeptidlerin kullanımının ardından,1997'de Japonya, ardından Amerika'dan vankomisine duyarlılığı azalmış *S. aureus* kökenleri bildirilmiştir (8,9,10). Glikopeptid direncinin de gelişmesi yazık ki uzun zaman almamış ve 2002 yılında ilk vankomisine dirençli *S. aureus* kökenlerinin bildirilmesiyle bu önemli silah da etkinliğini kaybetmeye başlamıştır (11).

MRSA suşları özellikle yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) önemli enfeksiyon etkenleridir. YBÜ' ne yatış öncesi dirençli bakterilerle kolonize veya enfekte olan hastalar bu patojenlerin YBÜ'lerine taşınmasında önemli bir kaynak oluşturmaktadır. MRSA enfeksiyonlarının kontrolünde uygun hedefler seçilerek yapılacak çalışmaların bu bakterinin etken olduğu enfeksiyonların kontrolünde etkili olacağı ve hasta bakım maliyetlerini düşüreceği öngörülmektedir (3).

MRSA enfeksiyonlarının gelişiminde burun ve cilt taşıyıcılığının önemli olduğu, özellikle de MRSA nazal taşıyıcılığının nozokomiyal MRSA enfeksiyonu için önemli bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Taşıyıcılık kişinin kendisi için bir

risk oluşturmakla birlikte epidemiyolojik öneme de sahiptir ve MRSA enfeksiyonun yayılımında önemli rol oynamaktadır (12).

MRSA suşları, yaygın buldukları servislerdeki hastane enfeksiyonu hızını tek başına artırmaktadır. Hastanelerde MRSA ile mücadelede enfeksiyonların önlenmesi kadar kolonizasyonun önlenmesi de önem taşır. Kolonizasyonun engellenmesi, MRSA enfeksiyon hızını düşürmektedir (13).

Çalışmamızda; hastanemizde MRSA enfeksiyon hızının en yüksek olduğu Genel Cerrahi ve Beyin Cerrahisi YBÜ'lerindeki hastalarda, MRSA taşıyıcılığının erken saptanması ve eradikasyonunun nozokomiyal MRSA enfeksiyon hızına ve tedavi harcamalarına etkisi araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Stafilokokları ilk kez 1878’de Roberth Koch tanımlamış,1881’de Pasteur sıvı besiyerinde üretmiş ve 1881’de İskoçyalı cerrah Alexander Ogston fare ve kobaylar için patojen olduğunu göstermiş ve bu mikroorganizmalara üremeleri sırasındaki karakteristik kümelenmelerinden dolayı *staphylococcus* (Grekçe *staphyle*: üzüm salkımı) adını vermiştir (14). Rosenbach 1884’de ilk kez insandan stafilokokları izole etmiştir ve beyaz renkli kolonileri *Staphylococcus albus*, sarı ve portakal renkli kolonileri ise *Staphylococcus aureus* olarak isimlendirmiştir (15).

Penisilinin 1928 yılında Alexander Fleming tarafından bulunması ve 1940 yılında kullanıma girmesi ile stafilokok enfeksiyonlarının tedavisinde önemli aşama kaydedilmiştir. Ancak penisilinin yaygın kullanımı direnç sorununu da beraberinde getirmiş ve penisilinaz üreten ilk stafilokok suşları 1944’de Kirby tarafından tanımlanmıştır (6).

İlk penisilinaza dirençli semisentetik antimikrobiyal olan metisilin 1959’da kullanıma girmiştir. İki yıl sonra, ilk metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) izolatları İngiltere’den bildirilmiştir. *S.aureus* suşlarındaki bu direnç 1960’lı yıllarda Avrupa’da, 1970’li yıllarda Amerika’da önemli bir sorun haline gelmiştir. MRSA suşları 1980’lerin sonlarında ve 1990’lı yıllarda tüm dünyada yayılmıştır ve hastane kaynaklı salgın etkeni olarak bildirilmiştir. Aynı zamanda kinolonlar, klindamisin, makrolidler, kloramfenikol, tetrasiklinler, aminoglikozitler, trimetoprim-sülfametaksazol ve rifampisin gibi antibiyotiklere karşı çoklu ilaç direnci ile sık karşılaşılması bu bakteriyi önemli bir sorun haline getirmiştir (6, 16).

Çoklu direnç gösteren MRSA suşlarına bağlı enfeksiyonların artmasıyla özellikle 1980’li yılların başından itibaren vankomisin, stafilokokal nozokomiyal enfeksiyonların tedavisinde daha çok kullanılır hale gelmiştir. 1995’de Fransa, 1996’da Japonya, 1997 yılında Amerika, Hong Kong ve Kore’de vankomisine azalmış duyarlılık (VISA: Vankomycin intermediate *S.aureus*) gösteren MRSA suşları izole edilmiş, 2002 yılının haziran ayında ise Amerika’da ilk VRSA (vankomycin resistance *S.aureus*) suşu bildirilmiştir. Bu suş diyaliz tedavisi gören 40 yaşında bir erkek hastanın katater ucundan izole edilmiştir (8, 17-23).

2.2. Sınıflandırma

Bergey'in 1986'da yaptığı sistematik bakteriyoloji sınıflamasına göre, *Micrococcaceae* ailesinde *Stomatococcus* ve *Planococcus* ile birlikte yer alan *Staphylococcus* ve *Micrococcus* türleri gram pozitif, katalaz pozitif koklar olarak belirtilmiştir (24). Bununla birlikte DNA (Deoksiribonükleik asit) dizi analizi, DNA-RNA (Ribonükleik asit) hibridizasyonu ve 16SrRNA'nın karşılaştırmalı oligonükleotid kataloglaması *Staphylococcus* ve *Micrococcus* türlerinin yakın ilişkili olmadığını göstermektedir (25, 26).

Stafilokoklar içerisinde en patojen tür *S.aureus*'dur. *S.aureus* dışındaki tüm stafilokok türleri genel olarak KNS (koagülaz negatif stafilokoklar) adı altında toplanmaktadır (24). Klinik örneklerden en sık izole edilen KNS *S.epidermidis* ve *S.saprophyticus*'tur. *Staphylococcus* cinsi içinde bugüne kadar 35 tür tanımlanmış olup, bunlardan 17 tanesi klinik örneklerden izole edilmiştir (24, 26).

2.3. *S.aureus*'un Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri

2.3.1. Mikroskopi ve Boyanma

S.aureus; 0,5–1,5 µm çapında, gram pozitif, yuvarlak, hareketsiz, sporsuzdur. Katı besiyerlerinden izole edildiklerinde mikroskopta çoğunlukla düzensiz kümeler (üzüm salkımı) oluşturmuş sferik hücreler olarak görülürler. Enfekte vücut sıvılarında veya sıvı besiyerlerinde morfolojik özellikleri üçlü-dörtlü kısa zincir yapan koklar şeklinde değişmektedir (14, 25, 26).

2.3.2. Üreme ve Kültür Özellikleri

S.aureus'un üreme ısı aralığı oldukça geniştir (18–45°C) Optimal üreme ısıları 30-37°Cdir. pH: 7-7,5 arasında iyi ürerler. Fakültatif anaerop olup çoğunlukla aerop üremeyi tercih ederler (25, 26).

%7.5-10 NaCl içeren basit besiyerlerinde ürerler. Ancak kanlı agarda daha iyi çoğalırlar. Suşların çoğu 18-24 saatte pigmentli (krem rengi, sarı-portakal rengi), S tipi, yuvarlak, 1-3 mm çaplı, besiyeri yüzeyinden hafif kabarık koloniler oluştururlar. Bazı suşlar β hemoliz yaparlar. Belirgin kapsül oluşturan suşlar parlak ve ıslak görünüme sahip olabilir (25).

Ayırt edici besiyeri olan mannitol salt agarda yüksek yoğunlukta tuz varlığında üreyebilen *S.aureus*, diğer stafilokoklardan mannitolü fermente etmesiyle

ayrılır. Fakat bazı stafilokoklar (örneğin *S.saprophyticus*) da mannitolü fermente ederek benzer koloniler oluşturabilmektedirler. Mannitol salt agarda fermentasyonun gözlenmesi için 48-72 saatlik inkübasyon süresi gerekmektedir (15).

S.aureus ısıya ve kuruluğa dayanıklıdır. 60°C'de 1 saatte inaktive edilir, kültürlerde 4 °C'de ve oda sıcaklığında aylarca canlı kalabilir. Dezenfektan ve antiseptiklere duyarlıdır (26).

S.aureus suşları içerisinde küçük koloni varyantları ise metabolizmalarındaki değişiklikler nedeniyle hemoliz yapmazlar, mannitolü fermente etmezler ve koagülaz üretimi daha zayıftır. Bu nedenle otomatize sistemlerle yanlış tanımlanabilirler. Yavaş üremeleri geleneksel yöntemlerle metisilin direncinin saptanmasını zor hale getirir (28, 29). Özellikle sık tekrarlayan stafilokoksik enfeksiyonlarda pinpon topuna benzer, pigmentsiz ve hemoliz yapmayan gram pozitif kok üremesi mevcut ise küçük koloni varyantı *S.aureus* suşları akla gelmelidir. Tür tanımlaması ve metisilin direncinin belirlenmesinde özel besiyerleri ve moleküler yöntemlerin kullanılması önemlidir (30, 31).

2.3.3. Hücre Yapısı

a. Genom

S.aureus genomu, 2500'e yakın geni kodladığı düşünülen 2800 baz çiftli sirküler bir kromozom ile profajlar, plazmidler ve transpozonlardan oluşur. Guanin+sitozin içeriği yaklaşık %32 moldür (26, 32).

b. Hücre Duvarı

Peptidoglikan Tabaka: *S.aureus*'un hücre duvarı kuru ağırlığının %50'sini peptidoglikan tabaka oluşturur. Peptidoglikan tabaka N-asetilglukozamin ve N-asetil muramik asit polimerlerinden oluşur. Bu tabaka mikroorganizmaların ozmotik stabilitesini sağlar ve bakteriye şeklini verir (24, 26).

Teikoik Asit: Major yüzey antijenidir. Peptidoglikan tabakasındaki NAMA (N-asetil muramik asit) molekülüne fosfodiester bağlarıyla kovalent olarak bağlanan uzun zincirler oluşturan şeker-alkol-fosfat polimerleridir. *S.aureus*'da özgün ribitol (5-karbon monosakkarid) fosfat polimeri yapısındadır (26).

Yüzey Proteinleri: Protein A, elastin, kollajen, fibronektin bağlayan proteinler ve kümeleştirici faktör (clumping faktör) kimyasal yapıları ve hücre duvar yerleşimleri birbirlerine benzeyen yüzey proteinleridir (15, 24).

c. Kapsül: *S.aureus*, suşlarının %90'ından fazlasında polisakkarit yapıda mikrokapsül bulunmaktadır. Günümüze kadar stafilokoklarda 11 kapsüller serotip tanımlanmıştır. İnsan hastalıklarından en sık soyutlanan kapsül serotipleri tip 5 (KP5) ve 8'dir (KP8). Ayrıca toksik şok sendromu toksini üreten suşların çoğunda tip 8 kapsül, metisilin dirençli suşların çoğunda tip 5 kapsül bulunmaktadır (24, 25, 26).

2.3.4. *S.aureus*'un Biyokimyasal Özellikleri

S.aureus suşları katalaz ve koagülaz pozitifdir. Stafilokoklar glukozu fermentatif olarak parçalar ve son ürün olarak laktik asit oluştururlar. Ayrıca laktoz, sükroz, mannoz, trehaloz ve maltozu da fermente ederler. Mannitolü ise sadece *S.aureus* fermente eder (14, 15).

Stafilokoklar furazolidin ve lizostafine duyarlı olmalarına karşın basitrasinin ve lizozime direnç gösterirler. Nitratı nitrite indirgerler. Oksidaz negatiftirler (24, 25).

2.4. *S.aureus*'un Virulans Faktörleri

a. Hücre Yapısında Bulunanlar

Peptidoglikan Tabaka: *S.aureus*'un peptidoglikan tabakası; makrofajlardan sitokin salınımını uyarmakta, kompleman aktivasyonuna ve trombosit agregasyonuna neden olmaktadır. Ayrıca monositlerden IL-1 salınımını uyararak polimorfonükleer lökositlerin enfeksiyon bölgesinde toplanmalarına ve apse oluşumuna da yol açmaktadır (32).

Teikoik Asit: Mukozalarda bulunan özgül reseptörler (fibronektin, fibrinojen, laminin, trombospondin, elastin, vitronektin, sialoprotein ve kollajen) ile birleşerek stafilokokların konak hücrelerine adherensini sağlamaktadır (32).

Yüzey Proteinleri: *S.aureus*'un konak dokularına kolonize olmalarında en önemli virulans faktörleridir. Bu proteinlerin prototipi olan protein A ilk olarak 1940'da Wervey tarafından tanımlanmıştır. Protein A 42 kilodalton ağırlığında olup, en önemli özelliği IgG3 dışındaki tüm IgG'ler ve IgA2 ile bazı IgM'lerin Fc reseptörleriyle birleşebilmesidir. Bu nedenle protein A'nın antikomplemanter ve antifagositer etkinliği vardır (15).

Kapsül: Bu ekzopolisakkarit, mikroorganizmayı fagositozdan korur ve konak hücrelerine ve özellikle de kataterler gibi yabancı cisimlere adherensini kolaylaştırır (24, 26).

b. Toksinler

Alfa Hemolizin (α - toksin): *S.aureus* suşlarının ana hemolizindir. En güçlü membran hasar proteini olup, por oluşumuna neden olarak inflamatuvar yanıtı indükler. Hemolitik, dermonekrotik, lizozom parçalayıcı ve doku kültürlerinde sitolitik etkileri vardır (14, 24).

Beta Hemolizin (β -toksin): Sfingomyelinaz özelliğiyle membranlardaki lipid yapılarını bozarak hasara uğratar. *S.aureus*' un hemolizini arttırıcı etkiye sahip olan Christie Atkins Munch Peterson (CAMP) faktörle etkileşen ve sinerjik hemolize neden olan yapıdır (15, 26).

Gama Hemolizin (γ -toksin): Özellikle stafilokokal kemik enfeksiyonlarında, serumda bu toksine karşı antikor düzeyinin yüksek bulunması toksinin bu hastalıklarda etkili olduğunu düşündürmektedir (15, 26).

Delta Hemolizin (δ -toksin): Hücre membran bütünlüğünü bozar ve adenilat siklazı aktive ederek cAMP (cylic adenosine monophosphate) salınımına neden olur. Bu toksin ayrıca lökosit makrofaj, lenfosit ve trombositleri de hasara uğratar (14,24).

Alfa ve delta toksin, insanlarda hastalık oluşturan *S.aureus* suşlarında en çok bulunan toksinlerdir. *S.aureus* suşlarının %95'i nde bunlardan biri, %82' sinde her ikisi birlikte bulunmaktadır (15, 24, 26).

Panton-Valentin Lökosidin: İlk olarak 1932 yılında Panton ve Valentin tarafından tanımlanmıştır. PVL (Panton-Valentin lökosidin) bir hemolizindir ve lökositler ve makrofajlar üzerine litik etkisi vardır. Birbirlerini sinerjik olarak etkileyen F (fast) ve S (slow) olarak isimlendirilen iki proteinden oluşur. Bunların molekül ağırlıkları sırasıyla 32 ve 35 kDa 'dur. İkisi de iyi antijen yapısındadır. Toksin konak hücre zarında potasyum ve diğer katyonlara karşı geçirgenliği arttırarak bu hücrelerin erimesine ve doku nekrozuna neden olur. Lökositler tarafından fagosite edilseler de lökosidin üreten stafilokoklar hücre içinde üremeye devam ederler. PVL geni (*lukF-PV* ve *lukS-PV*) mobil bir faj üzerinde kodlanır ve transfer edilir (14, 25, 26).

TK-MRSA (Toplum kaynaklı MRSA) suşlarında en önemli virulans faktörü PVL'dir ve suşların yaklaşık %95'inde görülmektedir. PVL, sağlıklı genç erişkinlerde görülen epidemik fronkül ve ağır nekrotizan pnömoni ile

ilişkilendirilmektedir. HK-MRSA (Hastane kaynaklı MRSA) suşlarında nadir olarak bulunmaktadır (14, 15, 24).

Enterotoksin: Isıya dirençli, 100 °C' ye 30 dakika dayanabilen, polipeptid yapısındadır. *S.aureus* suşlarının yaklaşık üçte biri enterotoksin üretir. Enterotoksin makrofaj ve yardımcı T hücrelerinden, sırasıyla IL-1 ve IL-2 salınımını uyarıp, sindirim kanalında bir süper antijen gibi davranır. Enterotoksinin A,B,C1,C2,C3,D, E ve F olmak üzere sekiz immünojenik tipi vardır. A ve D besin zehirlenmelerinde sık karşılaşılan toksinlerdir. F ise toksik şok sendromu toksinidir (14, 33).

Epidermolitik Toksin (Eksfoliyatin): Stafilokokal enfeksiyonların veziküler ve eksfoliyatif deri lezyonlarından sorumludur. Staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS) 'dan sorumludur (24, 34).

Toksik Şok Sendromu Toksini (TSST-1) : Stafilokoksik Enterotoksin F olarak da isimlendirilmektedir. TSST-1; sistemik etkili bir toksin olup toksik şok sendromuna neden olmaktadır. TSST-1, süper antijen gibi davranır. T lenfosit proliferasyonu ve monositlerden IL-1 salınımını uyarır. *S.aureus* suşlarının %5-25'i TSST-1 geni taşımaktadır. TSST-1 ve stafilokokal enterotoksinler pTSAg (pirojenik toksin süper antijenler) 'lerdir (14, 34).

c. Enzimler

Katalaz: Tüm stafilokoklar tarafından üretilen, hidrojen peroksidi (H₂O₂), olmayan oksijen ve suya dönüştüren bir enzimdir. Bakteriler bu enzim sayesinde fagositlerin içinde bulunan toksik oksijen radikalleri tarafından öldürülmeye direnç kazanır (14, 24).

Koagülaz: Stafilokoklar tarafından üretilen ekstrasellüler bir proenzim ve plazma pıhtılaşma proteinidir. Globulin yapısındaki bir plazma faktörü olan CRF (Coagülase reacting factor) ile birleşerek trombine benzer yapıdaki stafilotrombini oluşturur. Stafilotrombin de fibrinojeni fibrine dönüştürerek plazmayı pıhtılaştırır. Oluşan kalın fibrin tabakasının mikroorganizmayı fagositoza karşı koruyarak, patojeniteye katkı sağlar (14, 24).

Lipaz: *S.aureus* suşlarının tümü lipaz enzimi üretmektedir. Lipaz, yağları hidrolize ederek vücudun lipit içeren bölgelerinde stafilokokların yaşamasını sağlamakta ve yüzeysel dokuları invaze ederek fronkül ve karbonkül gibi enfeksiyonların gelişimine neden olmaktadır (14, 24).

Hyalurininidaz: *S.aureus* suşlarının %90'ı hyaluronidaz salgılar. Bu enzim konak bağ dokusu matriksinde bulunan hyaluronik asiti parçalayarak mikroorganizmanın kolayca doku içinde yayılmasını sağlamaktadır (14, 24).

Fibrinolizin (Stafilokinaz): Stafilokoklar tarafından ortama salınan kinazlar, plazmada bulunan plazminojeni aktive ederek plazmin oluşturur. Fibrinolitik etki ile fibrin ağını eriterek enfeksiyonun dokulara yayılmasına sebep olur (14, 24).

Deoksiribonükleaz (DNase): DNAase enzimleri endo ve ekzonükleaz aktivitesine sahip, nükleik asitleri 3'-fosfomononükleotidlere parçalayan fosfodiesterazlardır. Isıya dirençlidirler. *S.aureus* suşlarının %90'dan fazlasında bulunmaktadır (14, 24).

Beta-laktamaz (Penisilinaz): Stafilokoklar salgıladıkları beta - laktamaz enzimi ile penisilin grubu antibiyotiklerdeki beta-laktam halkasının hidroksil grubunu parçalarlar (14, 24, 26).

Fosfotidilinozitol-spesifik fosfolipaz C: Özellikle erişkin tip solunum zorluğu sendromu ve dissemine intravasküler koagülasyon bulunan hastalardan izole edilen suşlarda saptanan bir enzimdir. Bu suşlar antimikrobiyal ajanlara özellikle de penisilinlere daha dirençlidir (24).

S.aureus'un virulans faktörleri tablo 2.1'de gösterilmektedir.

Tablo 2.1. *S.aureus*'un virulans faktörleri.

<i>S.aureus</i> 'un virulans faktörleri		
Hücre Yapısında Bulunanlar	Enzimler	Toksinler
Peptidoglikan tabaka	Katalaz	Hemolizinler ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$)
Teikoik asit	Koagülaz	Lökosidin(Panton-Valentin
Yüzey proteinleri (ProteinA)	Lipaz	Lökosidin)
Clumping faktör	Hiyalarunidaz	Enterotoksinler (SE)
Ekstrasellüler matriks bağlayıcı proteinler	Fibrinolizin (Stafilokinaz)	Epidermolitik Toksin (Eksfoliyatin)
	Beta-laktamaz	Toksik şok sendromu toksini (TSST-1)
	Deoksiribonükleaz (DNaz)	
	Fosfotidilinozitol-spesifik fosfolipaz C	
	Kollajenaz	
	Proteaz	

2.5. Antibiyotik Duyarlılığı ve Direnç Gelişimi

Benzil penisilinler, 1940 yıllarının başında stafilokoklara karşı çok etkili iken, penisilinaz üreten bakterilerin kısa sürede ortaya çıkması üzerine etkinliğini kaybetmiştir. 1961 yılında, metisiline dirençli ilk *S.aureus* suşları bildirilmiştir. Bunu 1970'li yıllarda yaygın kullanılan birçok antibiyotiğe (klindamisin, kloramfenikol, tetrasiklinler, makrolidler, rifampin, aminoglikozitler) ve TMP-SMZ (trimetoprim-sülfametoksazol) direnç gelişmesi ve 1980'li yıllarda kinolon direncinin saptanması izlemiştir. Glikopeptid direnci ise özellikle 1990'lı yılların sonlarında görülmeye başlamıştır (26, 35, 36).

2.5.1. Beta-laktam Antibiyotik Direnci

S.aureus'ta bir beta-laktamaz olan penisilinaz enzimi yapımına bağlı penisilin direnci bildirilmiştir. Penisilin kullanıma sunulduğu yıllarda *S.aureus* suşlarının sadece %5–8 penisilinaz sentezlerken, günümüzde penisilinaz üreten suşlar %80–90 düzeyindedir (35, 36).

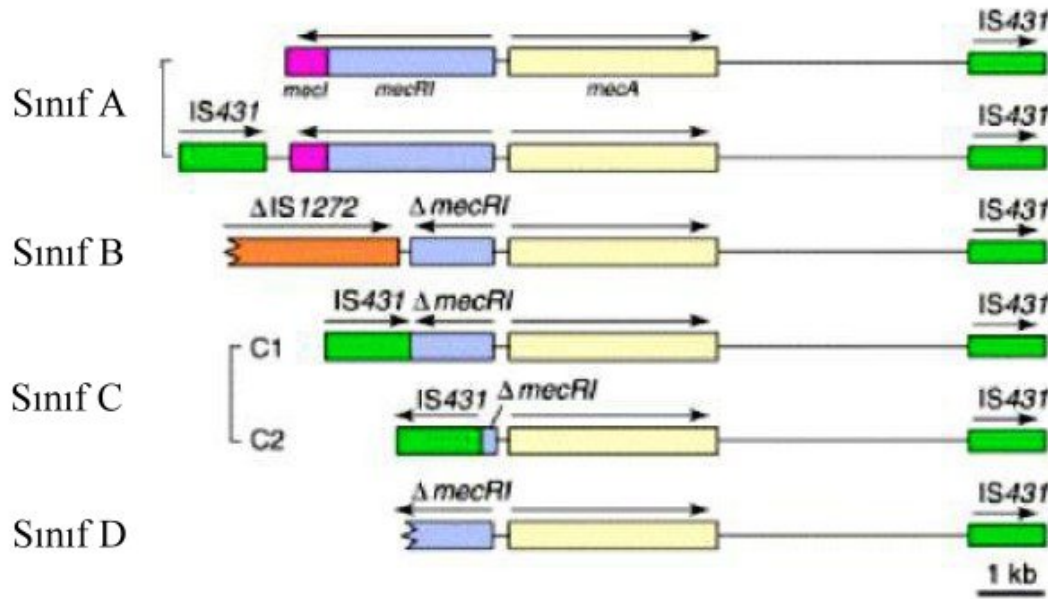
Genel olarak beta-laktam antibiyotiğin beta-laktamaz enzimi tarafından parçalanması ve enzim-substrat kompleksinin oluşması ile başlar. Beta-laktam halkasındaki karbon atomunun, serindeki hidroksil grubunun nükleofilik etkisi ile asimilasyonu sonucunda tetrahedrik bir yapı oluşur, enzim serbest kalarak beta-laktam halkasını parçalamaktadır (36, 37). Plazmid aracılı stafilokokal beta-laktamaz enzimini kodlayan gen *blaZ*'dir. *blaZ* geninin ekspresyonunun regülasyonundan sorumlu iki gen *blaR1* ve *blaI*'dir (38).

Beta-laktam antibiyotik direncinin belirlenmesinde, metisilin indikatör olarak kullanılmaktadır. Beta-laktam antibiyotik direncinin gelişmesinde 3 mekanizma bulunmaktadır (36).

a) PBP2a (Penisilin Bağlayan Protein2a) Sentezi Nedeniyle Oluşan Direnç: Metisilin direncine yol açan, en sık karşılaşılan direnç mekanizmasıdır. MRSA suşlarında MSSA (Methicillin-Sensitive *Staphylococcus aureus*) . suşlarından farklı olarak ek bir PBP vardır ve PBP2a olarak adlandırılır. 76 kDa ağırlığında bir protein olan PBP2a hücre membranına bağlı ve transpeptidasyon reaksiyonunu katalize eden bir enzimdir. Serin proteazlardan köken aldığı düşünülmektedir. PBP2a'nın beta-laktam antibiyotiklere affinitesi diğer PBP'lerden daha düşüktür. Beta-laktam antibiyotiklerin varlığında diğer PBP'ler inhibe olurken PBP2a fonksiyon görmeye devam ederek bakterinin yaşamını idame ettirir. PBP2a, *mecA* geni tarafından kodlanmaktadır. *mecA* geni tüm MRSA suşlarında bulunan bir mobil genetik elemanın parçasıdır. Katayama ve ark.'ları (39) *mecA*'nın stafilokokal kaset kromozomu (staphylococcal cassette chromosome-SCC) olarak tanımlanan bir genomik adacığın parçası olduğunu göstermişlerdir (Şekil 2). Bu adacıklarda *mecA* geninin yanı sıra diğer antimikrobiyallere dirençten sorumlu genler, *mecA* geni düzenlenmesini sağlayan *mecI* (represör gen) ve *mecRI* (sinyal dönüştürücü gen) genleri, insersiyon sekansları ve fonksiyonları henüz bilinmeyen genler vardır (39-43).

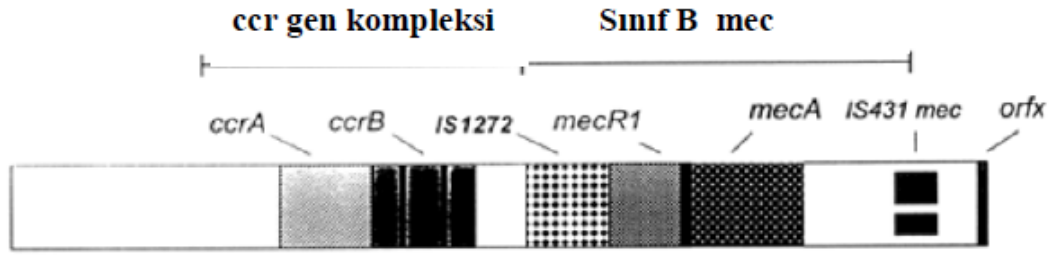
SCC; stafilokok türleri arasında genetik madde alışverişine aracılık eden hareketli bir elemandır. KNS türlerinde ve MSSA izolatlarında da bulunmaktadır. Yapı olarak patojenite adasına benzemekle birlikte, hiç virulans geni içermemektedir. *mecA* geni SCCmec adı verilen ve SCC ailesinin metisilin direnci açısından özelleşmiş bir üyesidir (40, 42, 44, 45).

SCCmec, 21-67 kb büyüklüğünde bir DNA dizisi olup, kromozomda replikasyon başlangıcının (*oriC*) yakınındaki *orfX* 'nin 3' ucunda *attB* bölgesinde yer almaktadır. SCCmec'in replikasyon merkezine yakın bir bölgede yerleştiği bilinmektedir. SCCmec *mec* gen kompleksi ve *ccr* gen kompleksinden oluşmuştur. *mec* gen kompleksi metisilin direncinden sorumludur. İçerdikleri yapılar *mec* gen kompleksi 4 sınıfta incelenir (37, 41-45). Bu sınıflar Şekil 2.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. *mec* gen kompleksinin dört sınıfı

SCCmec kasetinde ikinci ana genetik yapı olan *ccr* gen kompleksi kasetin bakteriyel genoma integrasyonu ve eksizyonundan sorumludur. Bunlar İntervaz/rezolvas ailesinden *ccrA*, *ccrB* ve yeni tanımlanan *ccrC* olmak üzere üç farklı rekombinaz kodlayan genlerdir. SCCmec'in mobilitesini sağlarlar. *ccrA* intervaz varlığında SCCmec kromozomunun doğru bölgesine girer ve *ccrB* rezolvas ile kromozomdan tam bir şekilde eksiksiz olarak ayrılır (45-47). *ccr* gen kompleksinin yapısı Şekil 2.2.'de görülmektedir.



Şekil 2.2. *ccr* gen kompleksinin yapısı

SCCmec elemanının diğer kısımlarında ise, SCCmec tipleri içinde farklılık gösteren ve J (junkyard) bölgesi olarak adlandırılan çeşitli diziler bulunur. SCCmec'in boyut değişikliklerinin bu nedenle olduğu düşünülmektedir. J dizileri arasında "insertion sequence" denilen IS elemanları, farklı antibiyotiklerle dirençten sorumlu transpozonlar yer almaktadır (42, 45, 46).

Şimdiye kadar SCCmec'in 5 farklı tipi tanımlanmıştır. Tip I, II, III ve V, Ito ve ark.'ları (47, 48) tarafından, tip IV Ma ve ark.'ları (49) tarafından tanımlanmıştır.

SCCmec Tip I; Bir prototip olan SCCmec tip I ilk MRSA suşudur. Sınıf B *mec* gen kompleksi ve tip I *ccr* gen kompleksinden oluşmaktadır. 34.364 bp'lik olup, transpozon veya plazmid taşımamaktadır. Metisilin ve ağır metaller dışındaki ilaçlara karşı direnç geni taşımamaktadır (46-48).

SCCmec Tip II; Sınıf A *mec* gen kompleksi ve tip II *ccr* kompleksinden oluşmaktadır. 53.017 bp'lik olup metisilin direnci oluşturan *mecA* ve *mecR1* genleri dışında, J bölgesinde Pub110 plazmid ve Tn 554 transpozonu taşımaktadır. Tn554; makrolid, klindamisin ve streptogramin B'ye karşı dirençten, Pub110 ise aminoglikozidlere karşı dirençten sorumludur (46-48).

SCCmec Tip III; Sınıf A *mec* gen kompleksi ve tip III *ccr* gen kompleksinden oluşmaktadır. Beş tipin en büyüğü 66.896 bp olup, *mecA*, *mecR1* dışında Pt181 plazmid, Tn554 transpozonu ve pseudo Tn554 (ψ Tn554) taşımaktadır. ψ Tn554 kadmiyuma, Pt181 tetrasiklin ve civaya karşı dirençten sorumludur. Diğer tiplerde bulunmayan ψ *ccr* geni adı verilen gen de içermektedir (46-48).

SCCmec Tip IV; sınıf B *mec* gen kompleksi ve tip 2 *ccr* gen kompleksinden oluşmaktadır. Bu yapı *mecA* dışında direnç geni içermemektedir ve küçük bir yapıdır (46, 47, 49).

SCC mec TipV; sınıf C *mec* gen kompleksi ile *ccrC* içermektedir. Ito ve arkadaşları tarafından bir Avustralya suşundan tanımlanmıştır. Bu kasetin boyutu 27.624 bp olup Tip IV'den biraz büyüktür. Sadece metisilin direnci kodlayan genlere sahiptir (46-48).

SCC mec tiplerinin izole edildikleri yıl ve ülkeye göre dağılımı Tablo 2.2.'de verilmiştir.

Tablo 2.2.: SCC mec tiplerinin izole edildikleri yıl ve ülkeye göre dağılımı.

YIL	ÜLKE	TİP
1961	İngiltere	Tip I
1982	Japonya	Tip II
1985	Yeni Zelenda	Tip III
2002	ABD	Tip IV
2002	ABD	Tip V

SCC mec tiplerinden, Tip I,II ve III genellikle hastane kökenli, Tip IV ve V ise toplum kökenli MRSA izolatlarında bulunmaktadır. *mecA* dışında direnç geni taşımadıklarından dolayı toplum kaynaklı suşlar genelde beta-laktam antibiyotiklere duyarlıdır (46, 51).

Ayrıca MRSA suşlarında homojen ve heterojen direnç sözkonusudur.

Homojen Direnç: Kolonideki bakteriler *mecA* genini taşırlar ve hepsinde *mecA* geni aktiftir. Bu direnç ortamın pH'sı, ısısı, tuz konsantrasyonu ve inkübasyon süresi gibi çevresel faktörlerle ilişkili değildir (36, 43, 44).

Heterojen Direnç: Klinik uygulamalarda daha sık görülen, ancak tesbiti güç olan direnç türüdür. *mecA* geni taşımalarına rağmen, 10^4 ya da 10^8 bakteriden birinde direncin olması durumudur. Bunun nedeninin; *mecA* dışındaki düzenleyici genetik elemanların mutasyonu olabileceği düşünülmektedir. Aynı zamanda bu suşlarda direnç, ortamın pH'sı, ısısı, tuz konsantrasyonu ve inkübasyon süresi ile ilişkilidir (36, 43, 44).

Ayrıca *mecA* varlığına rağmen metisilin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin düşük olduğu izolatlar da bulunmaktadır. Pre-MRSA olarak adlandırılan bu izolatlarda *mecI-mecR1* düzenleyici genleri işlevseldir. İnvitro

ortamda metisilin direnci görülmezken, *invivo* ortamda beta- laktam antibiyotikle karşılaşınca direnç ortaya çıkar. Bu nedenle heterojen dirençli izolatların saptanmasında *mecRI* için daha iyi ve hızlı bir indükleyici olan sefoksitin kullanılması, otolizinlerin etkisini azaltmak için besiyerine%2-4 oranında NaCl eklenmesi ve *mecA* gen ekspresyonunun artırılması için düşük ısıda inkübasyon gibi yöntemler kullanılmaktadır (26, 36, 52).

b) Aşırı Beta-laktamaz Salgılanması ile Oluşan Direnç: Beta-laktamazların aşırı salgılanması metisilini kısmen parçalayarak metisilin direncine neden olur. Bu suşlarda *mecA* geni negatiftir, bu tür direnç beta- laktam antibiyotik + beta-laktamaz inhibitörü ve beta-laktamazlara dirençli beta-laktamların kullanılması ile yenilebilir (35, 43, 45).

c) Mevcut PBP'lerde Beta-laktamlara Afinitesinde Azalma ile Oluşan Direnç: Son yıllarda *mecA* geni taşımadıkları halde metisiline dirençli suşlar tespit edilmiştir. Çok az sayıda gözlenen bu suşlar incelendiğinde, bu bakterilerin mevcut PBP'lerinin beta-laktamlara düşük afinite gösterdikleri saptanmıştır (26, 35, 45).

Metisilin Direncinin Düzenlenmesi:

PBP2a sentezi *mecI* ve *mecRI* proteinleri ve varsa *blaZ* sisteminin regülatör-sinyal verici proteinleri aracılığı ile düzenlenmektedir. PBP2a sentezinin hem *mec* hem de *blaZ* sisteminin proteinleri aracılığıyla bu denli sıkı biçimde denetlenmesinin nedeni PBP2a'nın aşırı yapımının bakteri için toksik olabilmesidir. Metisilin direncinin düzenlenmesinden sorumlu diğer gen serisi *fem* (factors essential for resistance to methicillin) genleridir (43, 53).

Metisilin direncini etkileyen internal ve eksternal faktörler bulunmaktadır.

Metisilin Direncini Etkileyen İnternal Faktörler: Genetik ve biyokimyasal çalışmalar PBP2a'nın fonksiyon görebilmesi için bazı substratlara ihtiyaç duyduğunu göstermiştir. Bu substratlar; belirli uzunluktaki glikan zincirleri, normal peptid konfigürasyonu için gerekli kök peptidleri, intakt olmak için gerekli pentaglisin çapraz köprüleridir. Substratların oluşumunu engelleyen faktörler, metisilin direncini etkilemektedir. Beta-laktamaz plazmidi ve *fem* genleri metisilin direncini etkileyen diğer internal faktörlerdir (43, 53).

Metisilin Direncini Etkileyen Eksternal Faktörler: Tuz konsantrasyonu, pH, ozmolarite ve ortam ısıdır. Yüksek NaCl konsantrasyonunun (% 6,5) ve düşük

sıcaklığın (30-35 C°) metisilin direncini nasıl artırdığı tam olarak bilinmemektedir. İnkübasyon süresinin 18 saat yerine 24 saate uzatılmasının da metisilin dirençli suşların saptanma şansını artırdığı bilinmektedir (43, 53).

2.5.2. Kinolon Direnci

1980'li yıllarda kullanılmaya başlanan kinolonlara başta metisilin dirençli suşlar olmak üzere tüm *S.aureus* izolatlarında direnç gelişmiştir. Kinolon direncinden sorumlu mekanizmalar; kinolonların hedefi olan topoizomeraz IV veya DNA girazdaki spontan kromozomal mutasyonlar veya çoklu ilaç efluks pompası indüksiyonudur (35, 36, 54, 55).

2.5.3. Vankomisin Direnci

İlk kez 1995 yılında vankomisine orta düzeyde (vankomisin MİK değeri 8 µg/ml) dirençli *S.aureus* (VISA) suşu bildirilmiştir. Bu olgu bildirimini Amerika, Japonya, İngiltere ve Almaya'dan bildirilen VISA'lar izlemiştir (17-23).

2002 yılında Amerika'dan bildirilen iki vankomisine dirençli *S.aureus* (VRSA) suşu için vankomisin MİK değeri ≥ 32 µg/ml olarak bulunmuştur. VISA suşlarındaki kromozomal dirençten farklı olarak VRSA suşlarında direnç *Enterococcus faecalis*'teki *vanA* operonunun konjugal transferi sonucu gelişmiştir. Günümüzde *S.aureus*'ta bilinen iki vankomisin direnç mekanizması vardır; Peptidoglikan biyosentezindeki değişiklik (VISA suşlarında görülen mekanizma) ve *vanA* operonunun konjugal transferi (VRSA suşlarında görülen mekanizma) (9, 11, 36).

2.6. Metisiline Dirençli *Stapylococcus aureus*

Günümüzde MRSA, sağlık hizmeti veren kurumlarda nozokomiyal ve toplum kaynaklı enfeksiyonların major nedenidir. MRSA ilk kez, penisiline dirençli *S.aureus* enfeksiyonlarının tedavisi için metisilin kullanımından 2 yıl sonra 1961'de rapor edilmiştir (56, 57, 58). Önemli bir morbidite nedenidir. Hayatı tehdit eden ciddi klinik tablolara ve salgınlara neden olabilir. MRSA suşlarıyla oluşan enfeksiyonların tedavisi uzun, zor ve pahalıdır (56). Genel olarak hastane enfeksiyonu etkeni olarak bilinmesine rağmen son yıllarda TK-MRSA enfeksiyonunun da giderek önem kazandığı görülmektedir. 1980 yılında Amerika'dan ilk TK-MRSA enfeksiyonu bildirilmiş, 1999 yılında "CDC (Centers for Disease Control and Prevention)" tarafından 4 çocukta mortal seyreden TK-MRSA enfeksiyonu bildirilmesi TK-

MRSA suşlarını gündeme getirmiş ve bu konuya olan ilgiyi arttırmıştır. Hastane dışında veya hastaneye yatışın ilk 48 saatinde saptanmış olan enfeksiyonları TK-MRSA enfeksiyonu olarak adlandırılmaktadır (56, 60).

2.7. MRSA Epidemiyolojisi

2.7.1. Prevalans ve İnsidans

Hastanelerde yoğun enfeksiyon kontrol girişimlerine rağmen *S.aureus* suşları arasında metisilin direnci sürekli artış göstermektedir. Günümüzde MRSA tüm dünyada yaygın olarak görülmekte olup, prevalansı ülkeler arasında oldukça farklılıklar göstermektedir. Kuzey Avrupa ülkelerinde MRSA prevalansı %1'den düşük iken Güney Avrupa ülkelerinde, Amerika'da ve bazı Asya ülkelerinde bu oran % 50'leri aşmış durumdadır. EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System) verilerine göre ülkemizde metisilin direnci, 2007 yılında %34,4 iken, 2009 yılında %37,3 olarak bildirilmektedir. CDC ve NHIS (National Healthcare-associated Infections Surveillance) verileri, nozokomiyal *S.aureus* izolatlarının %50'sinin metisiline dirençli olduğunu göstermiştir (63).

Amerika'da yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *S.aureus* suşlarının % 52'sinde, yoğun bakım dışı ünitelerden izole edilenlerin ise % 42'sinde metisiline direnç saptanmıştır (64).

Türkiye'de 1996-1999 yılları arasında yapılan dokuz ayrı çalışmada, *S.aureus* suşlarında metisilin direnci % 47,5 civarında bildirilmiş, 2000-2003 yıllarında ise sekiz ayrı çalışmanın sonuçları da bu orana çok yakın (% 46,6) bulunmuştur. Ancak son yıllarda hastanede yatan hastalardan izole edilen *S.aureus* suşlarına ilişkin verileri içeren yayımlar, metisilin direncinin % 52'ye yükseldiğini göstermektedir. Ülkemizde çeşitli merkezlerin çalışmaları incelendiğinde, yoğun bakım ünitelerinde *S.aureus* enfeksiyon sıklığı hastane genelinden farklı olmamakla birlikte bu suşlar içerisinde MRSA oranının %100'lere yaklaştığı gözlenmiştir (65,66).

TK-MRSA enfeksiyonları, Avustralya yerlilerinde %76, Amerikan yerlilerinde ise %62 insidansa sahiptir. Yunanistan'da %75, Cezayir'de %72 gibi yüksek prevalans yüzdeleri saptanmıştır. TK-MRSA suşları PVL pozitif suşların

oranı Avrupa’da 2003 yılında %0,8 iken, 2007 yılında %3,6 oranına çıktığı rapor edilmiştir (67, 68, 69).

2.7.2. Bulaşma ve Geçiş

Nozokomiyal MRSA enfeksiyonu için kaynak, kolonize veya enfekte hastalar ve MRSA taşıyıcısı (MRSA ile kolonize) sağlık personelidir. *S.aureus* suşları insanlarda; sıklıkla cilt ve mukozal yüzeylerde kolonize olurlar. Aynı zamanda orafarinks, gastrointestinal sistem ve ürogenital sistemde bulunabilirler. Doğumdan kısa bir süre sonra yenidoğan bebeklerde en sık göbek olmak üzere perine, cilt bazen gastrointestinal sistemde kolonizasyon gelişebilmektedir. Çocukluk döneminde başlıca yerleşim yeri nazofarinks iken, erişkin dönemde burunda kolonizasyon gelişebilmektedir (12, 15).

Popülasyonun yaklaşık %30’u *S.aureus* taşıyabilir. *S.aureus*’un ön burun deliklerindeki kolonizasyonu invaziv enfeksiyon açısından önemli bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Nazal *S.aureus* taşıyıcılığı ile *S.aureus* enfeksiyonları arasındaki ilişki ilk kez 1931 yılında Danbolt tarafından, fronkülü olan hastalarla yaptığı çalışma ile gündeme gelmiştir. Ancak kolonizasyon olmaksızın da nadiren de olsa *S.aureus* enfeksiyonları görülmektedir (70-73).

Bir toplumda herhangi bir zamanda erişkinlerdeki nazal taşıyıcılık oranının, epidemiyolojik faktörlere bağlı olarak, %20-40 arasında olduğu tahmin edilmektedir. Burun taşıyıcılığında kolonize olan mikroorganizma sayısı $10^2 - 10^3$ olabilir ve aynı kişi birden fazla suş ile aynı anda kolonize olabilir. Üç tip nazal taşıyıcılık görülebilir. Sağlıklı bireylerin %10-35’i persistan taşıyıcıdır. % 20-75 intermitan taşıyıcı iken %5-50 oranında da taşıyıcılık görülmemektedir. Persistan taşıyıcılarda bakteri yükü daha fazladır ve bu yüzden bunlarda enfeksiyon gelişme riski daha yüksektir. Persistan taşıyıcılık çocuklarda daha fazladır ve çoğu kişide 10-20 yaş arasında intermitan taşıyıcılığa dönüşmektedir (26, 72, 74).

S. aureus burun mukozasına teikoik asit komponentleri aracılığıyla bağlanır. Bu bağlantıda nazofaringeal mukozadaki musin de önemli yere sahiptir. *S.aureus*’un travmatize ve bütünlüğü bozulmuş deriye, yabancı cisimlere ve endotelial hücrelere adezyonunda ise bakterinin MSCRAMM (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules) molekülleri ile konak dokularındaki fibrinojen,

fibronektin, laminin, trombospondin, vitronektin, elastin, kemik sialoproteinleri, kollajen ve laminin yapıları arasındaki ilişki rol oynamaktadır (14, 24).

Nazal taşıyıcılığı etkileyen faktörler; *S. aureus*'un hücre duvarında bulunan lipoteikoik asit ve bazı yüzey proteinleri, viral enfeksiyonlar, bazı HLA tipleri (DR3 gibi), yaş, ırk, genetik yapı, immunolojik durum, kadınlarda hormonal durum ve hastanede yatış gibi durumlardır *S. aureus* kolonizasyonu genelde genetik özelliklerle ilişkilendirilirken, MRSA için kolonizasyon ve enfeksiyon açısından en önemli risk faktörleri, yaş, altta yatan hastalıklar, yabancı cisimler (santral venöz katater, trakeostomi, nazogastrik tüp), cerrahi işlem geçirme, yoğun bakım veya yanık ünitelerinde takip edilme olarak belirtilmektedir. Ayrıca MRSA enfeksiyonu açısından burun taşıyıcılığı, antibiyotik kullanımı ve uzun süreli hastanede kalma da önemli risk faktörleri olarak kabul edilmektedir (25, 75, 76).

Birçok hastanede endemik hale gelmiş olan MRSA için de kaynak genelde kolonize veya enfekte olan hastalar ya da sağlık çalışanları olmaktadır. Enfeksiyonlar genellikle kolonize suşun cilt veya mukozal yüzeylerden steril olan bölgelere girişi ile gelişmektedir. Ayrıca insandan insana bulaş (hava, eller, sekresyonlar, enfekte yaralar yoluyla) da mümkündür ki bu genellikle hastane enfeksiyonlarına neden olan mekanizmadır (32).

MRSA'nın yerler, lavabo, çalışma alanları gibi ortamlardan; turnike, tansiyon aleti gibi araç gereçten izole edilebildiği gösterilmiş olmakla birlikte bunların mikroorganizmanın yayılması için kaynak olma olasılığı oldukça düşüktür. Ancak pansuman malzemesi gibi kritik, yarı-kritik malzemenin ve yanık ünitesi gibi riskli bölümlerde duş, sedye gibi malzemelerin salgın kaynağı olabileceği bildirilmektedir (77).

Hastadan hastaya bulaşmada sağlık çalışanlarının elleri en önemli araçtır. Yara debridmanı, trakeal aspirasyon, kateter bakımı, elbise değiştirme gibi işlemlerden sonra personelin ellerinde MRSA bulunabildiği gösterilmiştir. Kendisi nazal taşıyıcı olan personelin, elleriyle hastaya MRSA suşlarını bulaştırması çok daha sık karşılaşılan bir durumdur. Ayrıca sağlık çalışanlarının iş yükünün artmasının MRSA enfeksiyonlarında artışa neden olduğu gösterilmiştir (77).

TK-MRSA enfeksiyonu için kaynak, kolonize veya enfekte bireylerdir. Nozokomiyal enfeksiyonlarda olduğu gibi toplumdan kazanılmış enfeksiyonlarda da

burun ve cilt MRSA kolonizasyonunun önemli olduğu bilinmektedir. Bulaşma enfekte veya kolonize bireyle temas ve ortak eşya kullanımı ile gerçekleşmektedir (68, 69).

TK-MRSA enfeksiyonu için risk faktörleri, MRSA enfeksiyonu öyküsü veya kolonizasyonu olan bireylerle yakın temas, kronik cilt enfeksiyonları, dövme yaptırma, kontamine eşyaların ortak kullanımı, kalabalık, kapalı topluluklarda bulunma (öğrenciler, sporcular, askerler, mahkumlar, bakımevinde kalanlar) intravenöz ilaç bağımlılığı ve antibiyotik kullanımıdır (özellikle kinolon ve makrolid kullanımı) (68, 69, 78).

2.7.3. Coğrafi Dağılım

MRSA prevalansı coğrafik bölgeler arasında değişiklik göstermektedir. Avrupa'da yapılan bir prevalans çalışmasında İtalya, Fransa, İspanya, Belçika ve Avusturya'da MRSA prevalansının yüksek, Almanya'da orta, Danimarka, İsveç, Hollanda ve İsviçre'de çok düşük olduğu saptanmıştır (61, 62).

Ülkemizde ise, 2003-2004 yılları arasında yapılan çok merkezli çalışmada; izole edilen MRSA suşlarının bölgelere göre dağılımları araştırılmıştır. Buna göre MRSA prevalansları; Marmara Bölgesi'nde %53, Ege Bölgesi'nde %56, Karadeniz Bölgesi'nde %37, Akdeniz Bölgesi'nde %56, İç Anadolu Bölgesi'nde %52, Doğu Anadolu Bölgesi'nde %58, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde %42 ve Türkiye genelinde %52 olarak bildirilmiştir (66).

2.7.4. Mevsimsel Dağılım

MRSA enfeksiyonlarında mevsimsel dağılım özellikleri *S.aureus* enfeksiyonlarına benzer. Solunum sistemi enfeksiyonları insidansı kış aylarında artış gösterirken, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları ise daha çok yaz aylarında artış göstermektedir (79).

2.7.5. Yaş

Nozokomiyal MRSA enfeksiyonları ≥ 65 yaş erişkinlerde saptanır. TK-MRSA enfeksiyonları ise sıklıkla küçük çocuk ve adolesan yaş grubunda tesbit edilmektedir (60, 80).

2.7.6. Cinsiyet

MRSA enfeksiyonları oranları cinsler arasında benzerlik gösterse de yapılan bazı çalışmalarda erkeklerde daha sık rastlandığı rapor edilmektedir (61, 62, 79).

2.7.7. Irk

Özellikle toplum kaynaklı MRSA enfeksiyonlarının yerli ve siyah ırklarda daha sık görüldüğü saptanmıştır (62, 69, 79).

2.7.8. Meslek Grupları

Nozokomiyal MRSA enfeksiyonları, sağlık personeli ve sağlık kuruluşları ile ilişkili meslek gruplarında gözlenir. TK-MRSA enfeksiyonları ise askerlerde, sporcularda, öğrencilerde daha sık gözlenmektedir (78, 79, 80).

2.7.9. Sosyoekonomik Faktörler

Nozokomiyal MRSA enfeksiyonlarının gelişmesinde hastanelerin gelişmişlik düzeyleri, hijyen kurallarına uyum, çalışanların eğitimi önemli rol oynamaktadır. TK-MRSA enfeksiyonlarının sıklığının artmasında, hijyen eksikliği, özellikle kalabalık ortamlarda bulunma (kalabalık sınıflar, soyunma odaları, koğuşlar) gibi faktörler rol oynamaktadır (62, 69, 79).

2.8. MRSA Patogenez ve İmmünite

MRSA enfeksiyonlarının patogenezinde; tüm *S.aureus* suşlarında olduğu gibi bakteriye ait virulans faktörleri ve konak immün sistemi arasındaki ilişki önemli rol oynamaktadır (24-26).

2.8.1. Nonspesifik İmmün Yanıt

Deride meydana gelen zarar veya kesik MRSA suşlarının yerleşip enfeksiyon oluşturması için fırsattır. Bu yanıt, fagositoz yoluyla olmakta, fagositoz sırasında lökositler, tamamen kaplayana kadar bakteri plazma membranlarını sarmaktadırlar. *S.aureus* suşları, lökositler içinde yaşayabilmelerini sağlayan 'komplement' adı verilen koruyucu bir protein üretmektedir (32).

2.8.2. Spesifik İmmün Yanıt

S.aureus tanısında immünolojik testlerin yeri yoktur. *S.aureus* antijenler içerir ancak hangi antijenin serolojik çalışmalar için değerli olduğu tartışmalıdır. İnsan

serumunda *S.aureus* teikoik asit antikorları bulunmuştur. Çeşitli çalışmalar, bu antikorların bakteremik hastalarda varlığının hastalığın çok ciddi formda olduğunu gösterdiğini düşündürmektedir (Endokardit, osteomyelit ve metastatik apselerde dahil) (32, 81).

2.8.3. İnvazif MRSA Enfeksiyonları İçin Konağa Ait Risk Faktörleri;

- a) Lökosit kemotaksis bozuklukları: Wiskott Aldrich sendromu, Down sendromu, Job sendromu, diabetes mellitus, romatoid artrit)
- b) Oponizasyon bozuklukları (hipogammaglobulinemi)
- c) Fagositoz sonrası bakterilerin intraseluler olarak öldürülmesindeki yetersizlikler (kronik granulomatoz hastalıklar)
- d) Deri bütünlüğündeki bozulmalar (yanıklar, cerrahi girişimler, ekzama)
- e) Özellikle virusler olmak üzere diğer mikroorganizma enfeksiyonları
- f) Altta yatan kronik hastalıklar (maligniteler, alkolizm, kronik kalp ve akciğer hastalıkları)
- g) Antimikrobiyal kullanımı

2.9. MRSA Klinik

S.aureus doğrudan inflamasyon ve doku yıkımına neden olma yeteneğinde olup, çok geniş bir enfeksiyon spektrumuna sahiptir. MRSA suşları da *S.aureus* enfeksiyonlarına benzer klinik tablolara yol açmaktadır. Hastane kaynaklı suşlar daha çok yara yeri, üriner ve solunum sistemi enfeksiyonları ile bakteremiye neden olurken, toplum kaynaklı suşlar sıklıkla apse, selülit, follikülit ve impetigo gibi deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına, daha nadir olarak da ağır nekrotizan pnömoniye neden olmaktadır. Klinik tablolar arasında birinden diğerine geçiş olabilmektedir. Basit deri enfeksiyonu mortal bir bakteremi ile sonuçlanabilmektedir (15, 73, 81).

2.9.1. Nozokomiyal MRSA

Yara Yeri Enfeksiyonları: MRSA ciltte kolonize olabildiğinden cerrahi alan enfeksiyonlarının majör etkenlerindedir (82). Cerrahi girişim sonrası ikinci ya da daha sonraki günlerde yara etrafında ödem, eritem ve ağrı gelişir. Derin dokulara yayılım yoksa dikişlerin alınması, tekrarlayan pansuman ve 7-10 günlük antibiyotik tedavisi yeterlidir. Kateter, protez gibi yabancı cisim varlığı veya derin dokuların

(kemik gibi) tutulması halinde 4-6 hafta gibi uzamış antibiyotik tedavisine ek olarak yabancı cismin çıkarılması gerekir (14, 24).

Üriner Sistem Enfeksiyonları: MRSA kolonizasyonu olan hastalarla olabileceği gibi hematojen yayılımla da oluşabilir. Genellikle üriner katater varlığında, altta yatan hastalığı olan kişilerde görülmektedir (24-26).

Solunum Sistemi Enfeksiyonları: Hastane kaynaklı MRSA pnömonisi entübasyon veya aspirasyon ile ilişkili meydana gelir, hematojen yayılımla da ulaşabilir. Tipik olarak hızla doku destruksiyonu ve kavitasyona ilerleyen nekrotizan bir enfeksiyondur. Komplike olmayan vakalarda 10-14 günlük tedavi yeterliyken, tabloya endokardit eşlik ediyorsa en az 4 hafta uzatılmalıdır (24-26).

Bakteremi: Genellikle intravasküler veya üriner katater varlığı gibi invaziv girişimler ile ilişkilidir. Komplikasyon olarak metastatik enfeksiyonlar gelişebilir. Nozokomiyal MRSA bakteremisi hastanede gelişen bütün febril-septik epizodların ayırıcı tanısında düşünülmelidir.

HK- MRSA bakteremilerinde tedavi primer odağa ve metastatik odakların olup olmamasına göre değişir Vasküler katater etrafında tünel enfeksiyonu varsa katater hemen çıkarılmalıdır. Tünel enfeksiyonu yoksa antimikrobiyal tedavi verilebilir (10-14 gün). Artrit, osteomyelit gibi derin enfeksiyonlar gelişirse, tedavi süresi 4-6 haftaya uzatılmalıdır (14, 24-26).

2.9.2. Toplum Kaynaklı MRSA

Deri ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları: Sivilce, impetigo, fronkül karbonkül, nekrotizan fasiit gibi çeşitli enfeksiyonları kapsar. İlk lezyon örümcek ısırığı (kırmızı, ağrılı, ödemli lezyon) olarak isimlendirilir. Fronkül en sık rastlanan TK-MRSA enfeksiyonudur. Hastalık invazyon ve doku hasarına bağlı deri ve yumuşak dokuda gelişen primer nekrotik lezyonlarla karakterizedir. Kurutlu lezyonlar ve plakların neredeyse tamamında apseleşme ve selülit oluşmaktadır.

Hastalık genellikle deri ve yumuşak dokuyla sınırlı kalsa da bakteremi, septik şok, toksik şok benzeri tablo ve diğer sistemik komplikasyonlar gelişebilmektedir. Epidemik fronküle neden olan suşların önemli bir özelliği nekroza neden olma ve apseleşme yetenekleridir. Bu suşlarda PVL geni yaygın olarak bulunmaktadır (80, 83, 84).

Nekrotizan Pnömoni: Yüksek ateş, hipotansiyon, lökopeni ve multilobuler alveolar infiltrasyonla karakterizedir. Kan kültürü pozitifliği, hızlı septik şok gelişimi ve ARDS (Akut respiratuar distres sendromu) hastalığın her zaman görülen bileşenleridir.

TK-MRSA suşları ile gelişen diğer enfeksiyonlar; Bunların dışında bakteremi, osteomyelit, mediastinit, ortopedik protez enfeksiyonları, enfektif endokardit ve üriner sistem enfeksiyonlarıdır (80, 83).

2.10. MRSA Tanı

***S.aureus* Suşlarının Tanısı:** Koyun kanlı agara inoküle edilen hastalık örneğinin 37°C de 24 saatlik inkübasyonu sonrasında, koloni morfolojisi *Staphylococcus spp* ile uyumlu olan koloniler gram boya ile boyanır. Mikroskopik görünümü gram pozitif kok olan kolonilere, katalaz ve tüp koagülaz testi yapılı. Katalaz ve koagülaz testi pozitif olan suşlar *S.aureus* olarak kabul edilir (24-26).

Metisilin Direncinin Tespiti: Özellikle HK-MRSA suşlarının tüm beta-laktam antibiyotiklere direncinin yanı sıra beta-laktam dışı çeşitli antibiyotiklere de dirençli olmaları, hastalık örneğinden soyutlanan *S.aureus* suşunun metisilin direncinin, kısa sürede ve doğru olarak saptanması, bu suşlarla oluşan enfeksiyonların kontrol altına alınmasında ve tedavide doğru antibiyotiğin seçiminde büyük önem taşımaktadır (85-87).

Metisilin direncinin heterojen ortaya çıkabilmesi, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında bu suşların saptanmasını zorlaştırmaktadır. Uygunsuz saklanmış antibiyotik tozlarının ve disklerinin kullanılması, inkübasyon süresinin kısa tutulması, (24 saat yerine 18 saat), inkübasyon derecesinin 37°C olması veya inokulum miktarının az olması yanlış sonuçların elde edilmesine yol açabilir.

Metisilin direncinin saptanmasında; Disk difüzyon, sıvı mikrodilüsyon yöntemi, agar tarama, E-test, lateks aglütinasyon, kromojenik yöntemler ve moleküler yöntemler kullanılmaktadır.

Günümüzde metisilin direncinin saptanmasında *mecA* geninin moleküler yöntemlerle saptanması altın standart olarak kabul edilmektedir (85-87).

2.10.1. Disk Difüzyon

Disk difüzyon yöntemi, metisilin direncinin saptanmasında klinik laboratuvarlarda en sık kullanılan yöntemdir. Bu yöntemde MRSA izolatlarının saptanması amacıyla 1µg oksasilin diski kullanılmaktadır. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) tarafından belirlenen sınır değerlerine göre, inhibisyon zon çapı ≤ 10 mm olan izolatlar metisiline dirençli, olarak kabul edilirler.

Son yıllarda metisilin direncinin saptanmasında sefoksitin diskinin kullanılması gündeme gelmiştir. Oksasilin diskinin kullanılmasıyla elde edilen sonuçlara göre, duyarlılık ve özgüllüğünün daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu yöntemde 30µg sefoksitin diski kullanılmaktadır. CLSI önerilerine göre inhibisyon zon çapı ≤ 21 mm olan izolatlar metisiline dirençli kabul edilmektedir (88-89).

2.10.2. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

Bu yöntemde %2 NaCl içeren MHB (Mueller-Hinton broth) kullanılmaktadır. CLSI, testte kullanılacak olan inokulum miktarının 5×10^5 kob/ml olmasını 24 saat 35°C'de inkübasyonu önermektedir. Antibiyotik olarak oksasilin tercih edilmektedir. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi için CLSI tarafından belirlenen sınır değerlerine göre oksasilin MİK değeri ≤ 2 µg/ml olan izolatlar duyarlı, ≥ 4 µg/ml olan izolatlar dirençli kabul edilmektedir (87-89).

2.10.3. Agar Tarama

Bu yöntemde, 6 µg/ml oksasilin ve %4 NaCl içeren MHA (Mueller-Hinton agar)'a 0,5 McFarland bulanıklığa ayarlanmış saf bakteri kolonilerinden hazırlanan süspansiyonlardan ekim yapılır. Plaklar 24 saat 35°C'de inkübe edilir. Koloni oluşması durumunda test edilen suş metisiline dirençli kabul edilir. Testin duyarlılık ve özgüllüğü oldukça yüksektir (87-89).

2.10.4. E-Test

Bu yöntem de mikrodilüsyon ve disk difüzyona benzer şekilde test koşullarından etkilenmektedir. %2 NaCl içeren MHA'a 0,5 McFarland bulanıklığa ayarlanmış olan saf bakteri kolonilerinden hazırlanan süspansiyonlardan ekim yapılması önerilmektedir (87-90).

2.10.5. Lateks Aglütinasyon

Oldukça kısa sürede sonuç veren (yaklaşık 15 dakika) lateks aglütinasyon testi, PBP2a saptanmasını temel alan bir yöntemdir. Saf bakteri kolonilerinden hazırlanan süspansiyonlardan PBP2a ekstraksiyonu yapıldıktan sonra lateksle kaplanmış olan PBP2a monoklonal antikolar kullanılarak aglütinasyon yöntemiyle PBP2a varlığı araştırılmaktadır. MRSA suşlarını saptamada duyarlılık ve özgüllüğü oldukça yüksektir (87-89, 91).

2.10.6. Kromojenik Yöntemler

MRSA tespiti için kromojenik agarlar kullanılmaktadır. Çeşitli seçici ajanlar içeren kromojenik agarlar, geleneksel besiyerlerinin bazılarıyla karşılaştırıldığında MRSA tespitinde değişken bir duyarlılık ve özgüllüğe sahiptirler de seçici ajan olarak sefoksitin kullanıldığında duyarlılıklarının yüksek olduğu bildirilmiştir (87-89, 92).

2.10.7. Moleküler Yöntemler

MRSA izolatlarının saptanmasında *mecA* geninin PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) temelli yöntemlerle araştırılması altın standart olarak kabul edilmektedir. MRSA suşlarının saptanması için birçok PCR temelli test tanımlanmıştır. Bunların çoğu PBP2a'yı *mecA* geni ile *S.aureus*'a özgü bir başka geni (*nuc*, *coa*, *sa442*, *femA*, *femB*) saptayan multipleks PCR testleridir. Bu testlerin temel dezavantajı, aynı örnekte bir MSSA ile metisiline dirençli bir KNS suşunun birlikte bulunması halinde, yalancı pozitif sonuç verebilmeleridir (90).

Real-time PCR ile ise; *mecA* geni değil, *mecA*'yı taşıyan SCCmec elemanının çevresindeki *S.aureus*'a özgü dizilerin (*orfX* ve SCCmec kesişim yeri) saptanması hedeflenmektedir. Böylece diğer PCR temelli testlerdeki dezavantaj bu yöntemle görülmemektedir (90). Ayrıca doğrudan klinik örneklerin kullanılabilmesi ve hızlı olması real-time PCR testinin avantajıdır. Günümüzde doğrudan sürüntü örneklerinden MRSA saptanmasını sağlayan iki FDA (Food and Drug Administration) onaylı gerçek zamanlı PCR testi bulunmaktadır (91).

Real-time PCR: Floresan boyalar kullanılarak gerçek zamanlı olarak DNA'nın belirlenmesi ve miktarının gösterilmesi tekniğidir. Floresan sinyali PCR ürün miktarıyla doğru orantılı olarak artmaktadır. Sonuçlar PCR analizi sırasında

elde edilebilmektedir. Real-time PCR DNA'nın çoğaltımını ve ürünlerini tek bir tüpte belirlemeyi mümkün kılan ve kantitatif değerlendirme imkanı sunan bir yöntemdir (92).

Moleküler yöntemler aynı zamanda; MRSA suşlarını tiplendirme ve epidemiyeye neden olan suşlarının yayılımını izlemek için de kullanılmaktadır. Bunlar arasında pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), *spa* (protein A'yı kodlayan gen) dizi tiplendirme yöntemi ve multi-locus sequence typing (MLST) sık kullanılmaktadır (93-95).

1990'lı yılların başlarından itibaren PFGE ile *SmaI* makrorestriksiyon patern analizi hem yerel ve uluslararası epidemik suşların tanımlanmasını sağlamış hem de farklı *S.aureus* suşları arasında genetik ve evrimsel yakınlık bulunabileceğini göstermiştir. Ancak suşların filogenetik ilişkilerinin tam belirlenmesi, dizi analizi tabanlı bir teknik olan MLST analizi ve SCCmec elemanlarının gruplandırılması ile mümkün olmuştur. MLST analizinde, 7 farklı metabolik enzim geninde yaklaşık 450bp'lik bir kısmın dizi analizi yapılarak suşun allelik profili belirlenmekte (=Sekans Tipi; ST) ve bir program yardımıyla bilinen dizilerle karşılaştırılmaktadır (91).

Nozokomiyal MRSA suşları, SCCmec tip I,II, III taşır ve çoklu ilaç direnç geni içerir. Genellikle PGEF'de klonal tip USA100 ve USA 200, MLST'de ST239, ST5, ST22, ST45, ST247, ST254 olarak saptanmaktadır. Toplum kaynaklı MRSA suşları, SCCmec tip IV taşır çoklu ilaç direnç geni içermez. Genellikle PFGE'de klonal tip USA 300 ve USA400, MLST'de ST8 ve ST1 olarak saptanmaktadır (87, 91).

MRSA suşlarının tiplendirilmesinde, laboratuvar tanısının yanında neden olduğu klinik tablo, epidemiyolojik özellikleri, yaş, ırk, eşlik eden faktörler, antibiyotiklere direnç durumu da göz önüne alınmaktadır (87).

2.11. MRSA Enfeksiyonlarında Kullanılan Antimikrobiyal Ajanlar

2.11.1. Nozokomiyal MRSA

Çoklu antibiyotik direnç geni içerdikleri için HK-MRSA suşlarında tedavi seçeneği kısıtlıdır. HK-MRSA suşları; beta-laktam antibiyotikler, makrolidler,

aminoglikozid, kloramfenikol, kinolon, tetrasiklin, rifampisin ve TMP-SMZ' e dirençlidirler.

Glikopeptidler: Vankomisin; Gram pozitif bakterilerin hücre duvarı sentezini, peptidoglikan polimerlerinin D-alanil-D-alanin prekürsörlerine bağlanarak ve dolayısıyla transglikozilaz ve transpeptidaz enzimlerinin hedeflerini bozarak inhibe eder. Ayrıca RNA sentezini bozmakta ve sitoplazmik membran geçirgenliğini değiştirmektedir. Etkisi bakterisaldır. Oral kullanımı yoktur (96).

Vankomisin direnç mekanizması; Vankomisinin hücredeki hedefi D-alanin-D-alanindir. VRSA'larda görülen direnç, *vanA* geni varlığına bağlıdır. Bu gen varlığında D-alanin-D-alanin yerine D-alanin-D-laktat sentezlenir ve böylece vankomisin bağlanacak bir hedef bulamaz. Bunun sonucunda vankomisin direnci ortaya çıkar (9, 11, 36).

Teikoplanin; Vankomisin gibi etkisini hücre duvar sentezini inhibe ederek gösterir. Önemli miktarlarda emilim olmadığı için oral kullanımı söz konusu değildir. (97). Kronik osteomyelitlerin idame tedavisinde intramusküler form uzun süreli kullanılabilir. Deri ve yumuşak doku, alt solunum sistemi ve idrar yolu enfeksiyonlarında da etkilidir. İntraperitoneal ve intraventriküler kullanımı da bildirilmiştir (97).

Linezolid: Oksazolidinonlar tamamen organik sentez ile oluşturulan yeni bir antibiyotik grubudur. Protein sentezini inhibe ederek etki gösterirler ve stafilokoklar dahil pek çok mikroorganizmaya karşı bakteriyostatik etkilidirler. Linezolid FDA tarafından MRSA'ya bağlı nozokomiyal pnömoni, komplike ve komplike olmayan deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında kullanım onayı almıştır. Özellikle ventilatör ilişkili pnömoni de oldukça etkilidir (98).

Quinopristin-Dalfopristin: Streptogramin grubu antibiyotiklerdir ve 30/70 oranında iki siklik peptid antibiyotiğin kombinasyonudur. Protein sentezini engelleyerek etki gösterirler. Etkileri bakteriyostatiktir. Hem metisiline duyarlı, hem de dirençli *S. aureus* kokenlerine etkilidir. FDA tarafından MRSA'ya bağlı komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisi için onay almıştır. Nozokomiyal MRSA pnömonilerinde etkilidirler (97).

Mupirosin: Primer ve sekonder deri enfeksiyonlarında etken olan stafilokoklara mükemmel in-vitro etkinlik göstermektedir. Topikal antistafilokokal

ajandır. Mupirosin kalsiyum % 2 nazal pomadının 5 gün, günde iki kez burun deliklerine uygulanmasının, metisiline dirençliler de dahil *S. aureus* nazal taşıyıcılığının eradikasyonunda etkili olduğu bildirilmektedir (101).

Fusidik asit: Bakterinin protein sentezini ribozomlara bağlanmadan inhibe eden steroid benzeri bir antibiyotiktir. Etki mekanizmasının özgüllüğü nedeniyle diğer antibiyotiklerle arasında çapraz direnç görülmemektedir. Penisilin ve metisiline dirençli stafilokok enfeksiyonlarında glikopeptit antibiyotiklere oral kullanım kolaylığı ve maliyet açısından alternatif oluşturabilecek bir antibiyotiktir Beta laktamlarla çapraz direnç göstermedikleri için metisiline dirençli kökenlerde güvenle kullanılabilirler. MRSA suşlarıyla oluşan enfeksiyonların doğrudan veya ardışık tedavisinde tek başına ya da diğer antistafilokokal antibiyotiklerle birlikte kullanılabilir (100).

Daptomisin: Daptomisin lipopeptid grubundan, bakterisidal etkinliği olan bir antibiyotiktir. Daptomisinin etki mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır, ancak sitoplazmik membranda kalsiyuma bağlı olarak elektrik potansiyelinde değişiklik göstermektedir. Ayrıca membran bütünlüğünü bozarak, protein, DNA ve RNA sentezlerini hızla baskılayarak ve lipoteikoik ait sentezini önleyerek birkaç basamakta etkili olmaktadır. Komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları için FDA onayı almıştır (97).

Tigesiklin: Glisilsiklinler adı verilen bu yeni antibiyotik grubunun ilk üyesidir. Geniş spektrumludur bir antibiyotiktir. Yapısal olarak tigesiklin, minosiklinin semisentetik bir derivativesidir. Ancak, minosiklin ve tetrasikline oranla ribozomlara 5 kat daha güçlü bağlanır. Bakterilerde tetrasiklin direncinden sorumlu iki farklı genetik mekanizmaya (ribozomal korunma ve efluks mekanizmaları) karşı dirençli olması en önemli özelliğidir (99).

Klinik çalışmalarda tigesiklinin genellikle iyi tolere edildiği, komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ile komplike intra-abdominal enfeksiyonlarda etkili olduğu gözlenmiştir (99).

2.11.2. Toplum Kaynaklı MRSA

Ampirik tedavi yaklaşımlarında o toplumdaki MRSA sıklığı yanında hastada sağlık hizmeti ile ilişkili risk faktörü varlığının araştırılması önemlidir. (Hastanede yatış ve ayaktan tedavi öyküsü, antibiyotik kullanımı, kronik hastalık öyküsü,

intravenöz ilaç kullanımı, risk faktörü taşıyan kişiyle yakın temas). TK-MRSA sıklığının düşük olduğu bölgelerde, sağlık hizmeti ile ilişkili risk faktörü taşımayan ve klinik tablosu ağır olmayan hastalarda ampirik tedavide penisilinaza dayanıklı penisilin (oksasilin veya nafsilin) veya 1.kuşak sefalosporinler seçilebilir (80, 84).

TK-MRSA suşlarının çoklu ilaç direnç geni içermemeleri nedeniyle; hafif-orta şiddetteki enfeksiyonlarda ilk seçenek olarak vankomisin, linezolid gibi antibiyotiklerin kullanımına gerek yoktur. Klindamisin, TMP-SMZ, tetrasiklin gibi antibiyotikler tercih edilebilir. Ağır deri ve yumuşak doku enfeksiyonu olan, nekrotizan pnömonili veya hastaneye yatırılarak izlenen hastalarda ise glikopeptidler ilk seçenektir (80, 84, 102).

2.12. MRSA Enfeksiyonlarından Korunma

2.12.1. Nozokomiyal MRSA

Her sağlık kuruluşunun MRSA sorunu farklı boyutlardadır. MRSA kontrol programları kolonizasyonun önlenmesi ve etkenin hastalar arası taşınmasının engellenmesine odaklanmakta ve el yıkama, izolasyon önlemlerinin uygulanması, iletişim, taşıyıcılığın eradikasyonu, eğitim, surveyans, kontrollü antibiyotik kullanımı gibi temel ögeler üzerinde yapılandırılmaktadır (32, 103).

El Yıkama: Sağlık personeli eldiven giysin veya giymesin, hasta ile temastan önce ve sonra mutlaka ellerini sabun kullanarak yıkamalıdır. Antimikrobiyal içeren sabunların kullanılmasının yararları halen tartışmalıdır. El yıkama uyumunda 1,5-2 katlık artış, hastane kaynaklı enfeksiyonların insidansında %25-50 azalmaya neden olmaktadır (104, 105).

İzolasyon: Sadece nazal veya yüzeysel MRSA kolonizasyonu olan hastalar için standart önlemler yeterlidir. Bunun dışındaki hastalarda temas izolasyonu uygulanmalıdır. HICPAC (Hospital Infection Control Practices Advisory Committee) tarafından bu izolasyon önlemlerinin ayrıntıları tanımlanmıştır (106). Bu komitenin önerilerine göre yara yerinde MRSA kolonizasyonu veya enfeksiyonu olan; üriner sistem ile ilişkili MRSA enfeksiyonu veya kolonizasyonu olan ve sekresyonları kontrol edilemeyen trakeostomili hastalar mutlaka temas izolasyonuna alınmalıdır (32).

MRSA enfeksiyonu ve/veya kolonizasyonu nedeniyle izole edilecek hastaların hastanelerin koşulları nedeniyle, (özellikle yoğun bakım birimlerinde) her zaman ayrı odaya alınması mümkün olmamaktadır. Bu gibi durumlarda aynı odada kalan hastaların cilt bütünlüğünün bozulmuş olmamasına, invaziv girişim yapılmamasına, hastalarda nötropeni, steroid tedavisi, kemoterapi gibi immun sistemi baskılayıcı durumların olmamasına özen gösterilmelidir (32). Temas izolasyonunun sonlandırılması kontrol kültürlerinin sonucuna bağlıdır. Hastaya, antibiyotik tedavisi tamamlandıktan üç gün sonra ve 24 saat arayla alınan üçer adet enfeksiyon yeri ve burun kültürlerinde MRSA üremesi olmadığı tespit edilinceye kadar temas izolasyonu uygulanmalıdır (2, 32, 103).

İletişim

MRSA enfeksiyonu olan hastanın odasının kapısına uyarı ve talimat kartları asılmalıdır. Hastanın nakli gerekiyorsa; gideceği servise veya hastaneye bilgi verilmeli, Hastanın devrinden sonra 48 saat içinde MRSA üremesi saptanırsa geldiği bölüme haber verilmelidir (6).

Taşıyıcılık Eradikasyonu

MRSA ile kolonize kişilere antibiyotik uygulanması ile popülasyonun azaltılması mümkündür. Bu amaçla şimdiye kadar 3 farklı rejim uygulanmıştır.

1. Bakteriyel interferans
2. Sistemik antibiyotikler.
3. Lokal antibiyotikler veya dezenfektanlar

Sistemik antibiyotik tedavisi artan direnç oranları nedeniyle başarısız olabilmektedir. Rifampisin, siprofloksasin, TMP-SMZ, doksisiklin sık kullanılan sistemik antibiyotiklerdir (107).

Lokal antibiyotik ve dezenfeksiyon daha başarılı olmaktadır. Klorhekzidin bazlı sabun ile banyo yaptırılması da dekolonizasyon oranını artırmaktadır (32).

Bakteriyel interferans non-patojenik stafilokokların kullanıldığı, komplikasyonlar nedeniyle vazgeçilmiş olan eski bir yöntemdir. Lizostafin, bakteriofaj otolizinleri ve Melaleuca alternifolia eksttrakıdır (108).

Eğitim

Hastane içinde MRSA enfeksiyonlarının kontrol altına alınabilmesi için hasta, hasta yakınları ve personelin konunun önemi ve uygulamalar konusunda belirli aralıklarla eğitilmeleri gereklidir (32, 103).

Surveyans

Hastanelerde MRSA için kültür ve duyarlılık verileri sürekli olarak izlenmelidir. İzole edilen suşların kökenine (toplum kökenli, başka sağlık kuruluşu vb.) ait bilgilerin toplanması gereklidir. Bu veriler MRSA'nın hastane içi yayılımının izlenmesini ve salgınların erken fark edilmesinin sağlamaktadır. Epidemi şüphesi ve varlığında, hasta ve personelden surveyans kültürleri alınmalıdır (6, 32).

Kontrollü Antibiyotik Kullanımı

Enfeksiyon kontrol politikalarının çok önemli bir bileşeni de, hastane içinde antibiyotik kullanımının kontrolüdür. MRSA enfeksiyonlarının yaygın görüldüğü hastanelerde glikopeptid direnci görülme olasılığı yüksektir. Vankomisin uygun endikasyonda sadece tedavi amacıyla kullanılmalı, zorunlu haller dışında profilaktik amaçlı kullanılmamalı ve taşıyıcılığın eradikasyonun da yerinin olmadığı bilinmelidir. Diğer bazı antibiyotiklerin de aşırı kullanımı MRSA yayılımında rol oynamaktadır. Flurokinolon kullanımının hastanelerde MRSA yayılımını arttırabildiği epidemiyolojik olarak gösterilmiştir (6, 32).

2.12.2. Toplum Kaynaklı MRSA

Son yıllarda TK-MRSA enfeksiyonlarında artış olması, bu enfeksiyona karşı kontrol politikalarını gündeme getirmiştir. Kontrol politikalarının bileşenleri; Hijyen, deri ve yumuşak doku zedelenmelerinde yara bakımı, erken tanı ve uygun antimikrobiyal ajan kullanımındır (80, 84).

Hijyen

Enfeksiyondan korunmada en önemli nokta tüm enfeksiyon hastalıklarında olduğu gibi hijyen kurallarına dikkat edilmesidir. El yıkama, ortak eşya kullanımından kaçınma ve evre temizliği, özellikle kalabalık, kapalı topluluklarda önemlidir (80, 84, 102).

Deri Zedelenmelerinde Yara Bakımı

Kesik ve küçük yaraların uygun temizliği yapılmalı ve yaraların üzeri iyileşinceye kadar kapatılmalıdır. Sivilce, abse gibi lezyonlar sıkılmamalıdır (80,84).

Erken Tanı

Özellikle risk gruplarında erken tanı önemlidir. TK-MRSA cilt enfeksiyonlarında İlk lezyon örümcek ısırığı şeklindedir (Kızarıklık, ödemli, ağrılı lezyon). Lezyonu olan kişiye hemen tedavi başlanmalı ve diğer kişilerle teması önlenmelidir (80, 84).

Uygun Tedavi

Lezyonların temizliği sağlanmalı, sivilce ve abseler uygun şekilde drene edilmelidir. Pürülan materyalin kültürü yapılmalı, antibiyotik gerekli ise kullanılmalıdır. Taşıyıcılığın sonlandırılmasında antimikrobiyal ajan kullanımı rutin olarak önerilmemektedir. Ancak kapalı topluluklarda (genellikle kışla, yatılı okul) uygulanabilir (80, 84, 102).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 4.12.2008 tarihinde, 38 sayılı karar ile onaylandı. Etik kurul ve ilgili bölümler tarafından belirtilen öneriler doğrultusunda çalışma düzenlendi.

3.1. Hasta Popülasyonu ve Surveyans Kültürlerinin Alınması

Çalışmamıza, Aralık 2009-Temmuz 2010 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi ve Beyin Cerrahisi Yoğun Bakım Ünitelerinde yatarak tedavi gören 306 hasta dahil edildi.

Yoğun bakım ünitesine yatışı yapılan hastalardan ilk 48 saat içinde ikişer adet nazal ve aksiller sürüntü örneği alındı. Sürüntü örnekleri, Stuart marka eküvyonlu transport besiyerlerine, (eküvyonlar serum fizyolojik ıslatılarak) alındı. Örnekler alınmadan önce, hastalar yüzyüze görüşme ile bilgilendirildi ve onayları alındı. Her hasta için istatistiksel amaçlı hazırlanan MRSA takip formu dolduruldu (Bkz. EK1).

Takip formlarına; her bir hasta için yaş, cinsiyet, son 6 ayda hastanede yatış öyküsü, YBÜ'ne yatışta enfeksiyon varlığı, antibiyotik kullanım öyküsü, altta yatan hastalıklar (hipertansiyon, diabetes mellitus, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA), kalp yetmezliği, malignite, kronik böbrek yetmezliği, cerrahi yara) uygulanan invaziv girişimler (santral venöz katater, mekanik ventilatör, abdominal dren, göğüs tüpü, nazogastrik sonda, trakeostomi, endotrakeal tüp) kaydedildi.

Kolonizasyonu olan veya olmayan hastalardan, yoğun bakımda kaldıkları süre içerisinde haftada bir kontrol sürüntü örnekleri alındı. İlk 48 saat içinde ve daha sonra kontrol için alınan sürüntü örneklerinin, çalışılan yöntemlere göre sonuçları kaydedildi. MRSA veya MSSA kolonizasyonu tespit edilen hastalara 5 gün süreyle günde 2 defa nazal mupirosin uygulandı. Haftada 1 olmak üzere 3 kere alınan negatif kültür sonucu taşıyıcılığın eradikasyonu olarak kabul edildi (2, 32, 103).

3.2. Gereçler

3.2.1. Malzemeler

Steril eküvyonlar

Steril plastik özeler (10µl'lik ölçülü öze)

Steril plastik petri kutuları (90 mm)

Steril mikropipet uçları
Serum fizyolojik
Tavşan serumu (Liyofilize 5 ml)
Steril cam tüp
Steril lam
% 3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂)
Gram boyama seti
MRSA lateks aglütinasyon test kitleri
MRSA/MSSA real time PCR test kitleri

3.2.2. Cihazlar:

Real time PCR termalcycler cihazı
Vorteks
Santrifüj
Isıtıcı blok
Işık mikroskobu
İnkübatör
Biyogüvenlik kabini (sınıf II)
Derin dondurucu (-20 °C)

3.2.3. Besiyerleri

Koyun Kanlı Agar

37 gr kanlı toz besiyeri (Oxoid) 1000ml distile suda çözülerek 121°C'de 15 dakikada otoklavda steril edildi. 50°C'ye soğutuldu. Daha sonra üzerine 50ml defibrine koyun kanı eklendi ve steril petrilere dağıtıldı.

Mueller Hinton Agar

34 gram Mueller Hinton toz besiyeri (Becton Dickinson) 1000ml distile suda çözülerek 121°C'de 15 dakikada otoklavda steril edildi. 50°C'ye soğutuldu ve steril petrilere dağıtıldı.

Oksasilin Tarama Agar

Mueller Hinton toz besiyerine (Becton Dickinson) % 4 NaCl eklendi, 121°C’de 15 dakika otoklavlandıktan sonra 50°C’ye soğutuldu ve steril şartlarda 6 mg/ml olacak şekilde oksasilin toz (Vetrenal) eklenerek steril petrilere 4 mm kalınlıkta olacak şekilde dağıtıldı.

Chrom ID MRSA Agar

Üretici firmadan temin edildi (Biomeriux).

Stuart Transport Besiyeri

Üretici firmadan hazır olarak alındı (Copan).

3.3. Yöntemler

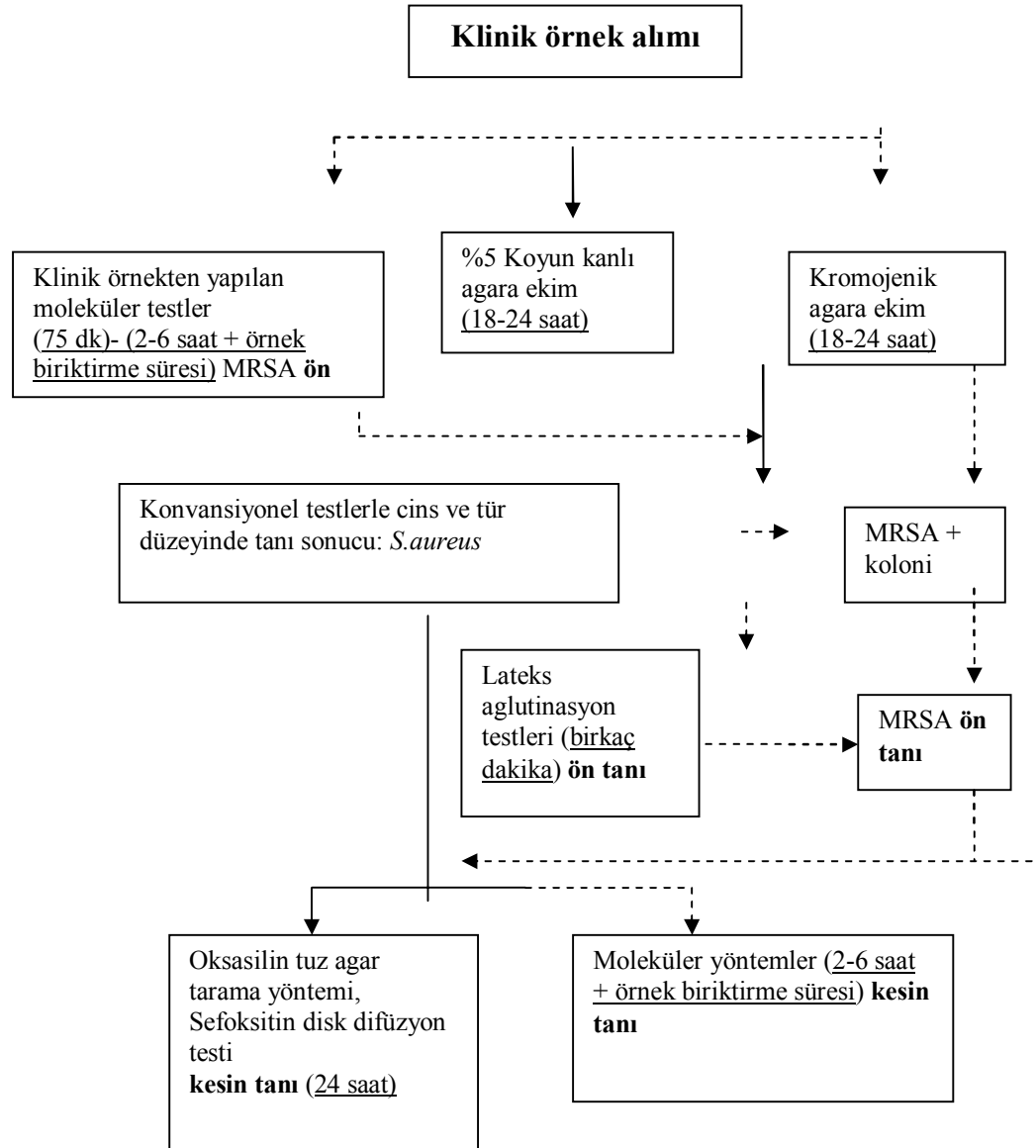
Hastalardan alınan örneklerden *S.aureus* suşlarında metisilin direncinin tesbiti için kullanılacak yöntemlerin belirlenmesinde Refik Saydam Hıfızısıhha Merkezi (RSHM)’nin hazırladığı algoritma temel alındı. Bu algoritma Şekil 3.1.’de verildi.

Transport besiyerine alınan sürüntü örnekleri hemen laboratuvara ulaştırıldı. Her hastaya ait birer nazal ve aksiller sürüntü örneği %5 koyun kanlı agara ve kromojenik agara inoküle edildi. Diğer nazal ve aksiller sürüntü örnekleri ise real-time PCR yöntemi ile çalışıldı.

S.aureus suşları gram boyama, katalaz, tüp koagülaz gibi geleneksel yöntemlerle tanımlandı.

Metisilin direnci ise; oksasilin agar tarama yöntemi, oksasilin ve sefoksitin diskleri kullanılarak disk difüzyon yöntemi, kromojenik besiyerinde üreme özelliği, lateks aglütinasyon testi ve real-time PCR ile araştırıldı. Real-time PCR yöntemi MRSA saptamada altın standart test olarak kabul edildi.

Tüm çalışmalarda ve her çalışma periyodunda standart suş olarak *S.aureus* American Type Culture Collection (ATCC) 29312 ve *S.aureus* ATCC 33593 suşları kullanıldı.



Şekil 3.1. Klinik örneklerden *S.aureus* tanımlaması ve metisilin direncinin belirlenmesi için laboratuvar standart uygulama prosedürleri.

3.3.1. *S.aureus* İdentifikasyonu

Koyun kanlı agara ekilen örnekler, 35°C’de 24 saatlik inkübasyon sonrasında değerlendirildi. Koloni morfolojisi *Staphylococcus spp* ile uyumlu olan kolonilerden gram boyama yapıldı. Mikroskopik görünümü gram pozitif kok olan kolonilere, katalaz ve tüp koagülaz testi uygulandı (15, 24, 25).

Katalaz Testi:

Besiyerinden lam üzerine alınmış koloniye % 3'lük hidrojen peroksitten (H_2O_2) birkaç damla damlatıldı, hava kabarcıklarının oluşması (oksijenin serbest kalması) katalaz pozitif olarak kabul edildi (24).

Tüp Koagülaz Testi:

Mikroskopik görünümü gram pozitif kok olarak saptanan ve katalaz pozitif olan izolatlar uygulandı. EDTA (Ethylene daimine tetraacetic acid)'lı tavşan plazması kullanıldı.

- 1) Besiyerinden öze ile alınan birkaç koloni, 0,5 ml plazma içeren cam tüp içinde emülsiyon haline getirildi.
- 2) Tüpler 35°C'lik etüve konuldu.
- 3) 1. 4. ve 24. saatlerde pıhtı oluşup oluşmadığı kontrol edildi. Bu süre içinde pıhtı oluşturan suşlar koagülaz pozitif kabul edildi ve *S.aureus* olarak tanımlandı (24).

3.3.2. Metisilin Direncinin Tesbiti

Disk Difüzyon Yöntemi

Metisilin direncinin belirlenmesi amaçlı antibiyotik diski; metisilin ısı ve benzeri fiziksel etkenlere oldukça duyarlı bir antibiyotiktir. Bu nedenle, metisilin yerine, aynı amaçla daha stabil bir antibiyotik olan oksasilin kullanılmaktadır. Son zamanlarda disk difüzyon yönteminde alternatif bir ajan olarak sefoksitin de tercih edilmeye başlanmıştır. Çalışmalar, sefoksitin ile elde edilen sonuçların oksasilinle elde edilenlerden daha güvenilir olduğunu göstermektedir. Özellikle sefoksitin kullanımında çok özel test koşullarına gerek duyulmaması, *mecA*'yı daha iyi indüklemesi avantaj olarak bildirilmiştir (85, 87).

- 1) Metisilin dirençli *S. aureus* suşlarının saptanması amacıyla 1 µg oksasilin ve 30 µg sefoksitin diskleri kullanıldı.
- 2) Koyun kanlı agarda *S.aureus* olarak tanımlanan kolonilerden hazırlanmış bir gecelik saf kolonilerden ve 0,5 Mc Farland bulanıklıkta hazırlanan bakteri süspansiyonundan MHA yüzeyine 1 ml ekim damlatılarak, steril eküvyonla besiyerinin yüzeyine yayıldı.
- 3) Oksasilin diski yerleştirildi.
- 4) Plaklar 35° C'de bir gece inkübe edildi.

5) CLSI standartlarına göre; Oksasilin inhibisyon zon çapı ≤ 10 mm olan izolatlar dirençli, ≥ 13 mm olan izolatlar ise duyarlı olarak kabul edildi. Sefoksitin inhibisyon zon çapı ≤ 19 mm olan izolatlar dirençli, ≥ 20 mm olan izolatlar ise duyarlı olarak kabul edildi (89).

Oksasilin Agar Tarama Yöntemi:

Oksasilin agar tarama CLSI döküman M7-A7 standartlarına göre yapıldı (89).

1) Bir gecelik saf *S.aureus* kolonilerinden 0,5 Mc Farland bulanıklığa ayarlanan bakteri süspansiyonu hazırlandı.

3) 1 ml ekim yapıp steril eküvyonla besiyerinin yüzeyine yayıldı.

4) Besiyerleri 35°C'de 24 saat inkübe edildi.

5) Tek bir koloni üremesi halinde bile suş oksasiline dirençli kabul edildi.

MRSA Kromojenik Besiyeri:

Hastalardan alınan birer adet nazal ve aksiller sürüntü örneklerinin koyun kanlı agara ekimiyle eş zamanlı olarak kromojenik agara da ekimi yapıldı. Nazal sürüntü örneği için 24 saat aksiller sürüntü örneği için 48 saat 35°C'de inkübasyon sonrasında yeşil renkli koloniler in oluşması durumunda suş, MRSA olarak kabul edildi (87).

MRSA Lateks Aglutinasyon Testi:

Lateks aglutinasyon testi için, PBP2a saptanmasını temel alan Slidex MRSA Detection (Biomeriux) kiti kullanıldı.

Kitin İçeriği

R1 (L) : Duyarlaştırılmış lateks (Monoklonal anti PBP2a antikorları) ile kaplanmış lateks partikülleri

R2 (LC) : Negatif kontrol lateks

R3 (EXT 1): Ekstraksiyon reaktifi 1

R4 (EXT 2): Ekstraksiyon reaktifi 2

Tek kullanımlık kartlar

Tek kullanımlık karıştırıcı çubuklar

Testin Yapılışı

PBP2a Ekstraksiyon İşlemi

1) Mikrosantrifüj tüpüne 4 damla Ekstraksiyon reaktifi 1 (R3) damlatıldı.

2) Saf *S.aureus* kolonilerinden 1µl'lik ölçülü öze ile 3 öze dolusu alınarak R3 reaktifi içeren mikrosantrifüj tüpüne konuldu ve tüm hücreler özeden ayrılana kadar homojenize edildi.

3) Mikrosantrifüj tüpü ısıtıcı blokta 95° C'de 3 dakika bekletildi.

4) Isıtıcı bloktan alınan tüp oda ısısına gelene kadar bekletildi.

5) Tüpe 1 damla ekstraksiyon reaktifi 2 (R4) damlatıldı.

6) 4500 rpm hızla 5 dakika santrifüj edilerek örnek hazır hale getirildi.

Lateks Aglütinasyon İşlemi

1) Reaktifler kullanılmadan önce oda ısısına gelene kadar bekletildi.

2) Lateks reaktifleri damlatılırken hava kabarcığı oluşmaması için vorteks kullanılarak homojenize edildi.

3) Her bir örnek için, test kartlarında 2 dairesel test alanı işaretlendi (R1 ve R2)

4) Önce bir damla R1 reaktifi damlatılan test alanına 50 µl örnek eklendi ve karıştırıcı çubukla karıştırıldı, örnek dairenin tüm yüzeyine yayıldı

5) Diğer test alanında benzer şekilde R2 reagent ile 50 µl örnek karıştırıldı.

6) Test kartı 3 dakika boyunca dairesel hareketlerle elde döndürülerek aglütinasyon oluşup oluşmadığı değerlendirildi.

Sonuçların Değerlendirilmesi

Sonuçların değerlendirilmesi, tablo 3.1.'de yer alan kriterlere göre yapıldı. Duyarlaştırılmış lateks ile aglütinasyon görülmesi pozitif olarak kabul edildi.

Tablo 3.1. Lateks aglütinasyon testi sonuçlarının değerlendirilmesi.

Test Sonucu	Yorum
Duyarlaştırılmış lateks (R1) ile aglütinasyon görülür ancak negatif kontrol lateks (R2) ile görülmez.	PBP2a pozitif (MRSA)
Her iki lateks reaktifi ile aglütinasyon veya çok iyi kumlanma gözlenmez	PBP2a negatif (MSSA)
Negatif kontrol lateks (R2) ile aglütinasyon görülür.	Belirsiz

Real Time PCR

Smart Cycler (Cepheid) cihazı ile gerçekleştirildi. BD GeneOhm™ MRSA kiti kullanıldı. Sonuçlar en geç 2 saat içinde

Kitin İçeriği

Sample Buffer (Örnek tamponu):Tris-EDTA tamponu

Lizis tüpü: Cam boncuklar

Master Mix (Ana Karışım) İçeriği:

< %0,0005 DNA polimeraz kompleksi

< %0,001 Dahili Kontrol - MRSA-primer bağlayıcı diziler ve prob

hibridizasyonu için özgün bir dizi içeren enfeksiyöz olmayan DNA

< %0,002 primerler

< %0,002 moleküler problemler

< %0,05 dATP, dCTP, dGTP, dTTP

Sığır serum albümini

Karbonhidrat

MgCl₂

< %0,001 enfeksiyöz olmayan *Staphylococcus epidermidis* genomik

DNA'sı ATCC 14990)

Kontrol DNA İçeriği:

Tris-EDTA tamponu

Karbonhidrat

< %0,001 enfeksiyöz olmayan genomik MRSA DNA'sı (ATCC

43300)

Dilüent İçeriği:

Tris-HCl tamponu

MgCl₂

(NH₄)₂SO₄

Testin Yapılışı

Örneklerin Hazırlanması

1) Nazal sürüntü örneklerinin alındığı eküvyonlar örnek tampon tüplerine yerleştirildi.

2) Eküvyonların sap kısımları makasla kesildi ve tüplerin kapakları kapatıldı.

- 3) Tüpler 1 dakika vortekslendi ve içerikleri pipet yardımıyla lizis tüplerine aktarıldı.
- 4) Lizis tüpleri 5 dakika 14.000 rpm hızla santrifüj edildi.
- 5) Steril pipetle tüplerdeki süpernatant ortamdan uzaklaştırıldı.
- 6) Dipteki çökeltiye 50µl sample buffer eklendi.(Her örnek için yeni bir pipet ucu kullanıldı.).
- 7) Tüpler yüksek hızda 5 dakika vortekslendi.
- 8) İçeriği tüpün alt kısmına getirmek için, tüpler düşük hızda 5–10 saniye santrifüj edildi.
- 9) Daha sonra tüpler, ısıtıcı blokta 95°C’de 2 dakika tutuldu.
- 10) Hazır hale gelen lizatlar bir spora yerleştirilerek -20°C’de en az 10 dakika bekletildi.

Test İşlemi ve Smart Cycler Cihazına Yerleştirme

- 1) Test edilecek örnek başına bir SmartCycler tüpü ve pozitif ve negatif kontrol için iki ek SmartCycler tüpü, soğutucu blok üzerine yerleştirildi.
- 2) Yeterli sayıda (Her 8 örnek için 1 tane) master mix 225’er µl dilüent ile sulandırıldı ve 5–10 saniye vortekslendi.
- 3) Kontrol DNA 225 µl sample buffer ile sulandırıldı.
- 4) Sulandırılan master mix’ler ve kontrol DNA 5–10 sn vortekslendi ve en az 5–10 dakika oda ısısında bekletildi.
- 5) Daha sonra soğutucu bloktaki Smart Cycler tüplerine önceden sulandırılan 25’er µl master mix dağıtıldı.
- 6) Daha önceden hazırlanan lizatların her birinden 3 µL farklı bir SmartCycler tüpüne konuldu ve tüpler kapatıldı.
- 7) Kalan lizatlar gerekirse daha sonra kullanım için -20 ± 5°C’de donduruldu.
- 8) Sulandırılan kontrol DNA’sından 3 µL en sondan bir önceki SmartCycler tüpüne (Pozitif Kontrol) eklendi ve tüp kapatıldı.
- 9) Son SmartCycler tüpüne (Negatif Kontrol) 3 µL sample buffer eklendi ve tüp kapatıldı. Tüm reaksiyon tüpleri 5–10 saniye santrifüj edildi.
- 10) Tüpler cihaza yüklemmeden önce SmartCycler soğutma bloğu üzerinde 2–8°C’de bekletildi.
- 11) BD GeneOhm™ MRSA test protokolü ile bir çalışma oluşturuldu.

12) Çalışmayı başlatmadan önce örnekler için tanımlama parametreleri girildi.

13) Her reaksiyon tüpü SmartCycler I-CORE modülüne yerleştirildi ve I-CORE kapağı kapatıldı. Çalışma başlatıldı.(63 dakika süreli)

14) Amplifikasyon işlemi, sinyallerin saptanması ve yorumlanması Cepheid Smart Cycler cihazı ile yapıldı.

Aksiller sürüntü örnekleri çalışılırken ise, örneklerin hazırlanmasındaki 4. ve 5. basamaklardaki işlemler (konsantrasyon ve yıkama) yapılmadan 6. basamaktaki işleme geçildi. Testin diğer basamakları aynen uygulandı.

Sonuçların Değerlendirilmesi

Sonuçların değerlendirilmesi, Tablo 3.2.'de yer alan kriterlere göre yapıldı.

Tablo 3.2. Smart Cycler cihazında test sonuçlarının yorumlanması.

Bildirilen Test Sonucu	Sonucun Yorumlanması
NEG(Negatif)	MRSA DNA saptanmadı, MRSA kolonizasyon olasılığı düşük
POS (Pozitif)	MRSA DNA saptandı, MRSA kolonizasyonu
Unresolved (Çözümlememiş)	Çözümlememiş- inhibitör örnek veya ayıraç başarısızlığı
ND (Belirlenmedi)	I-CORE modülüne yerleştirme başarısızlığı nedeniyle saptanamadı.

3.4. İstatiksel Değerlendirme

Çalışmanın verileri 'SPSS for Windows, Version 13.0' paket programı kullanılarak analiz edildi. Çalışmanın verileri, ortalama değer \pm standart sapma (\pm SD), sayı ve yüzde değerler ile verildi. Gruplar arasında ortalamaların karşılaştırılmasında bağımsız örneklerde t testi, frekansların karşılaştırılmasında Ki-kare testi veya Fisher's Exact Test kullanıldı. Ki-kare testinin uygun olmadığı durumlarda Kolmogorof-Smirnov testi uygulandı. İstatistiki değerlendirmede elde edilen p değerinin 0.05 değerleri'nden küçük olması anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda MRSA kolonizasyonun araştırıldığı 306 hastanın, 213'ü Genel Cerrahi YBÜ ve 93'ü ise Beyin Cerrahi YBÜ hastasıydı. Hastalardan YBÜ'ne yattıkları ilk 48 saat içinde nazal ve aksiller sürüntü örnekleri alındı. Tüm hastalar arasında 49 (%16) hastada *S.aureus* kolonizasyonu tespit edildi. Beyin Cerrahisi YBÜ'nde yatan 93 hastanın 15'inde (%16) ve Genel Cerrahi YBÜ'de yatan 213 hastanın ise 34'ünde (%15,9) *S.aureus* kolonizasyonu saptandı.

Yoğun bakım ünitesine yatışlarını takiben İlk 48 saat içinde *S.aureus* kolonizasyonu saptanan hastaların yoğun bakım ünitelerine ve kolonizasyon bölgelerine göre dağılımı Tablo 4.1.'de görülmektedir.

Tablo 4.1. İlk 48 saat içinde *S.aureus* kolonizasyonu saptanan hastaların yoğun bakım ünitelerine ve kolonizasyon bölgelerine göre dağılımı.

<i>S. aureus</i> Kolonizasyonu			
	Nazal n: 31	Nazal ve Aksiler n:18	Toplam n: 49
Genel Cerrahi	23	11	34
Beyin Cerrahisi	8	7	15

Çalışmamızda, ilk 48 saat içinde *S.aureus* kolonizasyonu saptanan ve saptanmayan hastaların özelliklerinin karşılaştırıldığı tek değişkenli analizde; *S.aureus* kolonizasyonu için santral venöz katater uygulaması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Yaş ortalaması, cinsiyet, yoğun bakım ünitesi, cerrahi girişim, hastane öyküsü, antibiyotik kullanma, YBÜ'ne yatışta enfeksiyon varlığı, eşlik eden kronik hastalık, invaziv girişim, abdominal dren, nazogastrik sonda, mekanik ventilatör, istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$).

İlk 48 saat içinde saptanan 49 *S.aureus* suşununun 19'u (%38,7) olarak tesbit edildi. MRSA kolonizasyonu saptanan ve saptanmayan hastaların özelliklerinin karşılaştırıldığı tek değişkenli analizde; MRSA kolonizasyonu için hastane öyküsü ve mekanik ventilatör uygulaması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Risk

faktörlerine göre MRSA kolonizasyonu saptanmayan ve saptanan hastaların verileri Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2. İlk 48 saat içinde MRSA kolonizasyonunun risk faktörlerine göre karşılaştırılması.

Değişkenler	MRSA kolonizasyonu saptanmayan n=287	MRSA kolonizasyonu saptanan n=19	Toplam n=306	Karşılaştırma
Yaş ortalaması	54,91±16,78	51,47±20,36	54,70±17,01	t=0.852;p=0.395
Cinsiyet				
Erkek	122 (91,0)	12(9,0)	134 (43.8)	$X^2 =3,087$; P=0,079
Kadın	165 (95,9)	7(4,1)	172 (56.2)	
YBÜ				
Beyin cerrahisi	85 (91,4)	8 (8,6)	93 (30.4)	$X^2 =1,314$; P=0,252
Genel cerrahi	202 (94,8)	11 (5,2)	213 (69.6)	
Cerrahi girişim				
Yok	87 (95,6)	4 (4,4)	91(29.7)	$X^2 =0,731$; P=0,392
Var	200 (93,0)	15 (7,0)	215 (70.3)	
Hastane öyküsü				
Yok	214 (96,0)	9 (4,0)	223 (72.9)	$X^2 =6,668$; P=0.010
Var	73 (88,0)	10 (12,0)	83 (27.1)	
Antibiyotik kullanma				
Yok	257 (94,5)	15 (5,5)	272 (88.9)	$X^2 =2,027$; P=0.155
Var	30 (88,2)	4 (11,8)	34 (11.1)	
Yatışta enfeksiyon				
Yok	254 (94,4)	15 (5,6)	269 (87.9)	$X^2 =1,537$; P=0.216
Var	33 (89,2)	4(10,8)	37 (12.1)	
Kronik hastalık				
Yok	135 (91,8)	12 (8,2)	147 (48.0)	$X^2 =1,855$; P=0.173
Var	152 (95,6)	7 (4,4)	159 (52.0)	
İnvaziv girişim				
Yok	107 (95,5)	5 (4,5)	112 (36.6)	$X^2 =0.924$; P=0.337
Var	180 (92,8)	14 (7,2)	194 (63.4)	
Abdominal dren				
Yok	215 (94,7)	12 (5,3)	227 (74.2)	$X^2 =1,286$; P=0.257
Var	72 (91,1)	7 (8,9)	79 (25.8)	
Nazogastrik				
Yok	148 (94,9)	8 (5,1)	156 (51.0)	$X^2 =0.639$; P=0.424
Var	139 (92,7)	11 (7,3)	150 (49.0)	
Mekanik ventilatör				
Yok	275 (94,5)	16 (5,5)	291 (84.6)	$X^2 =5.151$; P=0.023
Var	12 (80,0)	3 (20,0)	15 (4.90)	
Santral venöz kateter				
Yok	283 (94,0)	18 (6,0)	301 (98.4)	$X^2 =1,660$; P=0.198
Var	4 (80,0)	1 (20,0)	5 (1.6)	

İlk 48 saat içinde *S.aureus* kolonizasyonu saptanan hastalara (49/306) 5gün 2x1 topikal mupirosin pomad uygulandı. Bu hastalar 4 hafta boyunca takip edildi ve haftada birkez nazal ve aksiler surveyans kültürleri alındı (Taburcu olan hastalar kontrole çağrılarak). Topikal mupirosin uygulanan hastaların surveyans kültürlerinde *S.aureus* üremesi saptanmadı.

İlk 48 saat içinde *S.aureus* kolonizasyonu saptanmayan hastalardan ise hastanede yattıkları süre içinde haftada birkez nazal ve aksiller kültür tekrarı alındı.4 hafta boyunca hastalarda yeni gelişen *S.aureus* ve MRSA kolonizasyonları kaydedildi ve bu hastalara 5gün 2x1 mupirocin pomad tedavisi verildi. Bu hastaların tekrar kültürlerinde *S.aureus* suşu saptanmadı.

YBÜ'ne yattığı ilk 48 saat içinde kolonizasyon saptanmayan 97 hastadan haftada bir kez nazal ve aksiler surveyans kültürleri alındı. Bu hastaların 29'unda YBÜ'ne yatışlarının 7.gününde *S.aureus* kolonizasyonu geliştiği saptandı. Bunların 15'inin (%51.8) MRSA, 14'ünün ise MSSA (%48.2) olduğu tespit edildi. Surveyans kültürlerinde, 2.haftada 11/26, 3.haftada 3/6, 4.haftada 1/2 hastada MRSA kolonizasyonu saptandı.

İlk 48 saat içinde kolonizasyon saptanmayan hastalarda haftalık surveyans kültür sonuçları Tablo 4.3.'de verilmiştir.

Tablo 4.3. İlk 48 saat içinde *S.aureus* kolonizasyonu saptanmayan hastaların surveyans kültür sonuçları.

	7.gün n=97	2.hafta n=26	3.hafta n= 6	4.hafta n=2
<i>S.aureus</i> kolonizasyonu	29	16	3	1
MRSA kolonizasyonu	15	11	3	1

Çalışmamızda, ilk 48 saat içinde MRSA kolonizasyonu olmayıp yedinci günde MRSA kolonizasyonu saptanan ve saptanmayan hastaların özelliklerinin karşılaştırıldığı tek değişkenli analizde; MRSA kolonizasyonu için yaş ortalaması, yaş grupları, cinsiyet, yoğun bakım ünitesi, cerrahi girişim, hastane öyküsü antibiyotik kullanma, yatışta enfeksiyon varlığı, eşlik eden kronik hastalık, mekanik ventilatör invaziv girişim, abdominal dren, nazogastrik, cerrahi girişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).

Çalışma periyodu içinde, hastalardan 2'sinde MRSA kolonizasyonu olmaksızın MRSA enfeksiyonu gelişti. Hastaların 5'inde ise YBÜ'ne kabul edildikleri sırada MRSA enfeksiyonu mevcuttu ve bu hastalardan ilk 48 saat içinde alınan surveyans kültürlerinde MRSA nazal kolonizasyonu saptandı ve topikal mupirosin uygulandı. Kolonizasyon saptanıp, topikal mupirosin uygulaması yapılan hastaların hiçbirinde MRSA enfeksiyonu gelişmedi.

Gelişen MRSA enfeksiyonlarının 5'i cerrahi yara yeri enfeksiyonu, birer tanesi alt solunum yolu ve idrar yolu enfeksiyonuydu.

Çalışmamızda, MRSA enfeksiyonu saptanan ve saptanmayan hastaların özelliklerinin karşılaştırıldığı tek değişkenli analizde; MRSA enfeksiyonu için MRSA kolonizasyonu, antibiyotik kullanma, yatışta enfeksiyon varlığı, invaziv girişim istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$).

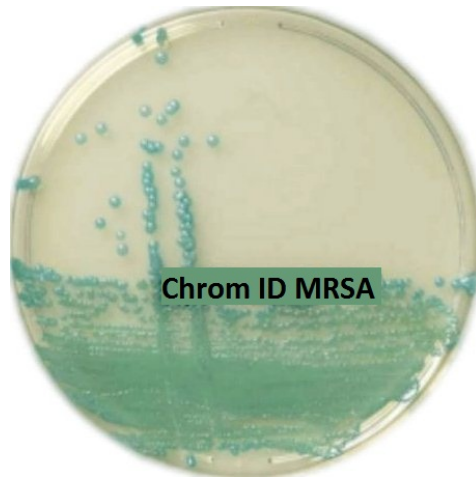
Risk faktörlerine göre MRSA enfeksiyonu saptanan ve saptanmayan hastaların verileri Tablo 4.4.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.4. MRSA enfeksiyonu saptanan ve saptanmayan hastaların özelliklerinin karşılaştırılması.

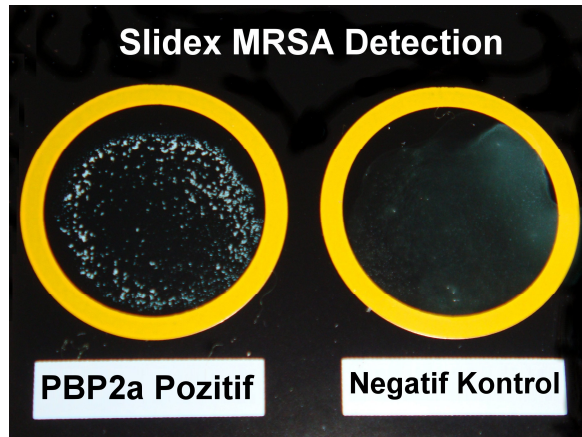
Değişkenler	MRSA enfeksiyonu saptanmayan n=299	MRSA enfeksiyonu saptanan n=7	Toplam n=306	Karşılaştırma
Yaş ortalaması	54,49 ±17,03	63,29±14,83	54,70±17,01	t=1.353; p=0.177
Cinsiyet				
Erkek	129 (96,3)	5 (3,7)	134 (43.8)	P=0.247
Kadın	170 (98,8)	2 (1,2)	172 (56.2)	
MRSA Kolonizasyonu				P= 0.006
Yok	239 (99.2)	2 (0.8)	241 (78.7)	
Var	60 (92.3)	5 (0.8)	65 (16.3)	
Cerrahi girişim				
Yok	90 (98,9)	1 (1.1)	91(29.7)	P=0.678
Var	209 (97,2)	6 (2,8)	215 (70.3)	
Hastane öyküsü				
Yok	218 (97,8)	5 (2,2)	223 (72.9)	P=1.000
Var	81 (97,6)	2 (2,4)	83 (27.1)	
Antibiyotik kullanma				
Yok	268 (98,5)	4 (1,5)	272 (88.9)	P=0.032
Var	31 (91,2)	3 (8,8)	34 (11.1)	
Yatışta enfeksiyon				
Yok	265 (98,5)	2 (2,2)	269 (87.9)	P=0.011
Var	34 (91,9)	5 (2,4)	37 (12.1)	
Kronik hastalık				
Yok	143 (97,3)	4 (2,7)	147 (48.0)	P=0.714
Var	156 (98,1)	3 (1,9)	159 (52.0)	
İnvaziv girişim				
Yok	112 (100,0)	-	112 (36.6)	P=0.050
Var	187 (96,4)	7 (3,6)	194 (63.4)	
Abdominal dren				
Yok	224 (98,7)	3 (1,3)	227 (74.2)	P=0.076
Var	75 (94,9)	4 (5,1)	79 (25.8)	
Nazogastrik				
Yok	155 (99,4)	1 (0,6)	156 (51.0)	P=0.063
Var	144 (96,0)	6 (4,0)	150 (49.0)	
Mekanik ventilatör				
Yok	253 (97,7)	6 (2,3)	291 (84.6)	P=1.000
Var	46 (97,9)	1 (2,1)	15 (4.90)	
Santral venöz kat.				
Yok	294(97,7)	7 (2,3)	301 (98.4)	P=1.000
Var	5 (100,0)	-	5 (1.6)	

YBÜ hastalarından alınan nazal ve aksiler sürüntü örneklerinde MRSA varlığını saptamada, disk difüzyon, oksasilin agar tarama, kromojenik agarda üreme özelliği, lateks aglütinasyon ve real-time PCR yöntemi kullanıldı. Real-time PCR yöntemi ile toplam 99 hastada *S.aureus* kolonizasyonu saptandı ve bu suşlardan 49'u (%49.4) MRSA (*mecA* +), 50'si (% 50.5) MSSA (*mecA*-) olarak tespit edildi.

MRSA suşlarının, kromojenik agardaki yeşil renkte kolonileri Şekil 4.1'de ve lateks aglütinasyon testinde oluşturduğu aglütinasyon Şekil 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Kromojenik agarda yeşil renkte MRSA kolonileri.



Şekil 4.2. Lateks aglütinasyon testinde, MRSA suşlarının oluşturduğu aglütinasyon (solda).

Real-time PCR ile saptanan 49 MRSA suşunun 3'ünde ve 50 MSSA suşunun 4'ünde fenotipik testlerle farklı sonuçlar elde edildi.(Tablo 4.5.)

Tablo 4.5. Real-time PCR sonucu ile fenotipik test sonuçları farklı saptanan 7 suşa ait test sonuçları.

	Real-Time PCR	DDT (Oksasilin)	DDT (Sefoksitin)	Oksasilin Agar Tarama	Kromojenik Agarda üreme özelliği	Lateks Aglutinasyon
1	+	-	-	-	+	+
2	+	+	+	+	+	-
3	+	+	+	+	-	+
4	-	-	-	-	+	-
5	-	+	-	+	-	-
6	-	-	+	-	-	-
7	-	-	-	-	-	+

*DDT, disk difüzyon testi; pozitif (+), MRSA olarak saptanan suşlar; negatif (-), MSSA olarak saptanan suşlar.

Çalışmamızda, real-time PCR ile MRSA (*mecA*+) olarak tanımlanan suş sayısı 49 iken MRSA saptamada kullanılan diğer 5 yöntemin herbiriyle bir MRSA suşu tanımlanamamıştır. Benzer olarak, real-time PCR ile MSSA (*mecA*-) olarak tanımlanan suş sayısı 50 iken diğer 5 yöntemin herbiriyle tanımlanan MSSA suşu sayısı 48 olarak bulundu.

MRSA kolonizasyonunun saptanmasında kullanılan 5 fenotipik yöntemin sonuçlarının real-time PCR sonuçları ile karşılaştırılmasına ait bulgular Tablo 4.6.'da verilmiştir

Tablo 4.6. MRSA saptanmasında kullanılan 5 fenotipik yöntemin sonuçlarının real-time PCR sonuçlarıyla karşılaştırılması.

	Real-time PCR + (MRSA) n:49	Real-time PCR – (MSSA) n:50
DDT (Oksasilin)	48	49
DDT (Sefoksitin)	48	49
Oksasilin Agar Tarama	48	49
Kromojenik Agarda üreme özelliği	48	49
Lateks Aglutinasyon	48	49

*DDT, disk difüzyon testi.

Çalışmamızda, MRSA saptamada 5 farklı fenotipik test aynı duyarlılık ve özgüllükte bulundu. (%98,0 ve %99,6). Tüm testlerin özgüllük ve duyarlılık değerleri standart test ile uyumlu bulundu (Tablo 4.7.).

MRSA saptanmasında kullanılan yöntemlerin PCR testine göre prediktif değerleri Tablo 4.7.'de verildi.

Tablo 4.7. MRSA saptanmasında kullanılan yöntemlerin PCR testine göre prediktif değerleri.

	Duyarlılık %	Özgüllük %	PPD %	NPD %
DDT (Oksasilin)	98.0	99.6	98.0	99.6
DDT (Sefoksitin)	98.0	99.6	98.0	99.6
Oksasilin Agar Tarama	98.0	99.6	98.0	99.6
Kromojenik Agarda üreme özelliği	98.0	99.6	98.0	99.6
Lateks Aglutinasyon	98.0	99.6	98.0	99.6

*PPD: Pozitif prediktif değer, NPD: Negatif prediktif değer.

4.1. MRSA Kolonizasyonunu Saptamada Kullanılan Testlerin ve MRSA Enfeksiyonu Tedavi Harcamalarının Maliyeti

Her bir test başına maliyet; kullanılan transport besiyeri, eküvyon, petri kabı, antibiyotik diski, toz besiyeri, cam tüp, lam, H₂O₂, EDTA'lı plazma gibi malzemelerin de maliyetleri göz önüne alınarak hesaplandı. İş gücü ve diğer harcamalar dahil edilmedi Buna göre tarama testlerinin birim maliyeti, kültür bazlı

testler (disk difüzyon testi, oksasilin agar tarama yöntemi, kromojenik agar, lateks aglütinasyon testi) için sırasıyla 2, 2.3, 3.6 ve 9.5 TL iken PCR birim test maliyeti 71.8 TL idi. Ayrıca taşıyıcılık eradikasyonu için topikal uygulanan mupirosin pomadın hasta başına maliyeti ise 3 TL idi.

Hasta başına MRSA enfeksiyonundan kaynaklanan maliyet, enfeksiyon cinsine, hastanın özelliklerine ve başka faktörlerle değişmekle birlikte ortalama 10 gün 2x1 vankomisin tedavisi uygulandığı ve bu durumun hastanın YBÜ'deki yatış süresinin de en az 10 gün uzamasına neden olduğu göz önüne alınarak hesaplandı. Buna göre, her bir hasta için MRSA enfeksiyonunda antimikrobiyal tedavi harcaması 270 TL, YBÜ'de ek yatış süresinden dolayı oluşan maliyet ise 2530 TL olarak bulundu. MRSA enfeksiyonunun hasta başına toplam maliyeti yaklaşık 2800 TL olarak hesaplandı.

4.2. Genel Cerrahi ve Beyin Cerrahisi YBÜ'lerindeki MRSA Enfeksiyon Hızları

Hastanemiz Hastane Enfeksiyon Kontrol Komitesi (HIKK) verileri ve (Enfeksiyon sayısı/ Yatan hasta sayısı) x 100 formülü kullanılarak hesaplandı. Buna göre; 2009 yılında aylık ortalama MRSA enfeksiyon hızları Genel Cerrahi YBÜ'nde 0.49, Beyin Cerrahisi YBÜ'de 4.3 iken, çalışmamız periyodundaki aylık ortalama MRSA enfeksiyon hızları Genel Cerrahi YBÜ'nde 0.47 ve Beyin Cerrahisi YBÜ'de 3.8 olarak saptandı.

5. TARTIŞMA

Nozokomiyal MRSA enfeksiyonları özellikle 1980'lerin başından itibaren önemli bir problem olarak ortaya çıkmıştır. YBÜ'leri ise bu bakteri ile hızlı bir şekilde kolonizasyon ve/veya enfeksiyonun geliştiği birimlerdir (72). Farklı ülkelerde yapılan çeşitli çalışmalarda MRSA suşlarının tüm hastane enfeksiyonlarının %20-60'ından sorumlu olduğu bildirilmektedir (109).MRSA'un etken olduğu bakteremi oranlarındaki artış ise dikkat çekmektedir. Tanı ve antimikrobiyal tedavi alanındaki tüm gelişmelere rağmen ağır MRSA enfeksiyonlarında mortalite ve komplikasyon oranları yüksek seyretmektedir (7, 110).

Nazal *S. aureus* taşıyıcılığı gerek toplum kaynaklı, gerekse hastane kaynaklı stafilokokal enfeksiyonların oluşumunda önemli bir risk faktörüdür. Birçok hastanede endemik hale gelmiş olan MRSA için de kaynak genellikle taşıyıcı veya enfekte olan hasta ya da sağlık çalışanları olmaktadır Tüm taşıyıcılarda enfeksiyon gelişmemekte, ancak enfeksiyon geliştiğinde bu genellikle burunda kolonize olmuş suşla olmaktadır (32). *S. aureus* nazal kolonizasyonu ile daha sonra gelişen enfeksiyonlar arasındaki ilişki ilk kez Donbolt ve ark.'ları tarafından gösterilmiştir (70). Von Eiff ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, hastalarda nazal kolonizasyon oluşturan *S.aureus* suşları ile daha sonra gelişen bakteremi etkeni suşların%80'den fazla vakada aynı genotipe sahip olduğu saptanmıştır (72).

MRSA kolonizasyonunun çeşitli durumlarda enfeksiyon gelişmesi için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Nazal kolonizasyon ve enfeksiyonlar arasındaki en belirgin ilişki cerrahi alan enfeksiyonları ve diyaliz hastalarında görülen MRSA enfeksiyonlarında belirlenmiştir (111).

YBÜ'ne yatış öncesi dirençli bakterilerle kolonizasyonu olan hastalar bu bakterilerin YBÜ'lerine taşınmasında önemli bir kaynak oluşturmaktadırlar. Fransa'da 14 farklı YBÜ'nde 6 ay süreyle hastaların YBÜ'ne kabulü sırasında nazal ve cilt MRSA kolonizasyonlarının araştırıldığı çok merkezli bir çalışmada, 2347 hastadan 162'sinde (%6,9) MRSA kolonizasyonu saptanmıştır. Aynı çalışmada MRSA taşıyıcılık prevalansının yüksek olduğu hastanelerde YBÜ'ne kabul edilen tüm hastalarda tarama yapılmasının gerekliliği vurgulanmıştır (112).

Sancak ve ark.'larının yaptığı çalışmada, YBÜ'nde yatan hastaların nazal, boğaz, perine ve aksiller kültürlerinde MRSA kolonizasyon oranı %33,3 olarak bulunmuş, kolonizasyonu olan hastaların %67,4'ünde nazal taşıyıcılık saptanmıştır. Yine ülkemizde cerrahi ve nöroloji YBÜ'lerinde gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise takip edilen 249 hastadan 39'unda (%17) nazal MRSA kolonizasyonu saptanmıştır (113). Yurt dışında yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde ise YBÜ'de nazal kolonizasyon oranlarının %4,5-12,9 arasında rapor edildiği görülmektedir. Nazal kolonizasyon oranı açısından bakıldığında ülkemizde YBÜ'nde tedavi gören hastalarda kolonizasyon oranlarının daha yüksek olduğu görülmektedir. Farklı çalışmalarda kolonizasyonun en sık saptandığı anatomik bölge olduğu göz önüne alındığında, nazal kültürlerle taşıyıcıların %85'inin tespit edilebileceği bildirilmiştir (114).

Çalışmamıza dahil edilen 306 hastadan, YBÜ'ne kabul edildiği ilk 48 saat içinde alınan nazal ve aksiller kültürler değerlendirildiğinde, 49 (%18.5) hastada *S.aureus* kolonizasyonu saptanmıştır. İlk 48 saat içinde saptanan 49 *S.aureus* suşunun 19'u MRSA olarak tesbit edildi. MRSA taşıyıcılık oranı, Genel Cerrahi YBÜ'nde, Beyin Cerrahi YBÜ'nde sırasıyla, %8,6 (8/93), %5,2 (11/213) olarak bulundu. MRSA kolonizasyonu olan 19 hastadan 10'unda nazal kolonizasyon, 9'unda hem nazal hem de aksiller kolonizasyon mevcuttu.

Kluytmans ve ark.'larının çalışmasında, hemodiyaliz hastalarında (%30,1–84,4), insüline bağımlı diyabetlilerde (%24,1-76,4), HIV enfeksiyonu olanlarda (%26,9-54,7), *S.aureus* deri enfeksiyonu olanlarda (%42-100)ve intravenöz uyuşturucu bağımlılarında (%33,8-61,4) nazal *S.aureus* taşıyıcılığı yüksek bulunmuştur (75). Altta yatan hastalıklar gibi yaş da kolonizasyonu etkileyen bir faktördür. Lu ve ark.'larının ayaktan tedavi gören 1838 ve hastanede yatan 393 hastada, nazal *S. aureus* ve MRSA kolonizasyon oranlarını ve risk faktörlerini araştırdıkları çalışmada 20 yaş altı veya 70 yaş üstünün *S.aureus* kolonizasyonu için anlamlı bir risk faktörü olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca yakın zamanda geçirilen gastrointestinal sistem hastalığı ve hastane başvurusu hikâyesi diğer risk faktörleri olarak bulunmuştur (115).

Bizim çalışmamızda *S. aureus* ve MRSA kolonizasyonu ile yaş ve cinsiyet, altta yatan hastalık açısından istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır (p< 0.05).

Hastaneye yatışı takiben 5–10 gün içerisinde hastaların %20-30'u o hastanede hakim olan suşu burunlarında taşımaya başlarlar. Antibiyotik kullanımı, hemodiyalize girme, cerrahi işlem, invaziv girişim, diabetes mellitus, immün yetmezlik gibi durumlarda bu oran daha da artar (7).

Çalışmamızda, YBÜ'ne yatışında nazal MRSA kolonizasyonu olmadığı saptanmış olan hastalarda *S. aureus* kolonizasyon insidansı %30 (29/97) olarak saptanmıştır. 2.haftada insidanda artış olduğu %61,5 (16/26) görülmüştür. MRSA kolonizasyon insidansının ise de 7. gün %16 (15/97) olduğu, 2. haftada da %38,4 (10/26) olduğu bulunmuştur. 7.gün MRSA kolonizasyonu gelişen hastalarla, gelişmeyen hastalar arasında yaş, cinsiyet, altta yatan hastalık açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır. ($p<0.05$)

MRSA suşlarıyla kolonizasyon, enfeksiyon gelişiminde en önemli risk faktörlerinden birini oluşturmaktadır. MRSA taşıyıcılarında 8 kat daha fazla enfeksiyon gelişmektedir, cerrahi yara enfeksiyonları yine taşıyıcılarda 17 kat daha fazla olmaktadır (13). Marshall ve ark.'larının yaptığı çalışmada YBÜ'ye kabul edilen hastaların %11.4'ü MRSA ile kolonize olmuş ve kolonize olan 63 hastadan 18'inde (%29) enfeksiyon geliştiği rapor edilmiştir. Bu çalışmada, YBÜ'de uzamış yatış süresi kolonizasyon ve enfeksiyon gelişimi açısından en önemli risk faktörü olarak tespit edilmiştir (116).

Çalışmamız süresince, MRSA enfeksiyonu tespit edilen 7 hastadan 5'inde MRSA kolonizasyonu saptanmış olup MRSA kolonizasyonunun varlığı MRSA enfeksiyonu gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Öztoprak ve ark.'larının üç cerrahi ve bir nöroloji YBÜ'nde yaptıkları çalışmada, 249 hastadan 21'inde (%8.4) MRSA enfeksiyon geliştiği gözlenmiş; yaş, cinsiyet ve altta yatan hastalıklar risk faktörü olarak saptanmazken, santral venöz kateter uygulaması, mekanik ventilatör kullanımı, önceden antibiyotik kullanımı ve uzun süreli YBÜ'nde kalma risk faktörleri olarak belirlenmiştir (117). Theakerve ark.'ları tarafından YBÜ'nde yürütülen bir başka çalışmada; 305 hastadan 19'u yatışta olmak üzere 97'si MRSA ile kolonize olmuş ve 43 hastada 56 MRSA enfeksiyon atağı izlenmiştir (118). Sekiz yataklı bir YBÜ'nde Dancer ve ark.'larının yaptığı bir başka çalışmada ise YBÜ'ne kabul edilen 174 hastadan 28'inde (%16) MRSA kolonizasyonu tespit edilmiş, 12 hasta da (%7) YBÜ'nde MRSA kazanmıştır

(118). Coello ve ark.'nın yaptığı MRSA ile kolonize olduğu bilinen 479 hastanın değerlendirildiği bir başka çalışmada ise 53 hastada (%11.1) 68 MRSA enfeksiyon atağı gelişmiş; üç ya da daha fazla antibiyotik kullanımı, ülserler, cerrahi yaralar, nazogastrik ya da endotrakeal tüpler, drenler ve üriner ya da intravenöz kateterizasyonun MRSA enfeksiyon oranlarının artışıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (120).

Çalışmamızda, MRSA enfeksiyonu ile MRSA kolonizasyonu, antibiyotik kullanma, yatışta enfeksiyon varlığı ve invaziv girişim arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$).

Ülkemizde farklı merkezlerden bildirilen çalışmalarda YBÜ'lerde MRSA insidansı %20-60 arasında bildirilmektedir. Kısa süre önce yayınlanan bir çalışmada Anestezi YBÜ'nde en sık saptanan enfeksiyon etkeninin %24.1 ile MRSA olduğu bildirilmiş, bir başka çalışmada ise YBÜ'de saptanan MRSA oranı *Pseudomonas aeruginosa* oranı ile eşit bulunmuştur (121).

Hasta bakımı için elde bulunan sınırlı kaynaklar göz önüne alındığında her merkezin kendi özelliklerine göre MRSA enfeksiyonları için bir kontrol programı geliştirmesi büyük önem taşımaktadır (122, 123). MRSA enfeksiyonlarının kontrolü için pek çok farklı yaklaşım tartışılmaktadır. Kontrollü antibiyotik kullanımı, YBÜ'de görevli sağlık personeli sayısının artırılması, el hijyenine uyum konusunda eğitime önem verilmesi, hastaların hastane yatış sürelerinin kısaltılması, invaziv işlemlerin sınırlandırılması ve hastalardaki kolonizasyonun surveyans kültürleri aracılığıyla erken dönemde saptanması ve eradikasyonu, izolasyon tedbirlerinin uygulanması bunlar içerisinde üzerinde en fazla durulanlardır. Surveyans kültürlerinin alınması olası kolonize hastaları erken dönemde saptayabilmek için önemli bir yaklaşım olmakla beraber, surveyans kültürlerinin alınması ve değerlendirilmesi ciddi bir iş gücü ve ekonomik maliyeti de beraberinde getirmektedir. Bu nedenle kolonizasyon için risk altındaki hasta popülasyonunun saptanarak hedef hasta topluluğunun belirlenmesi maliyeti azaltırken etkinliği de arttıracak bir yaklaşım olarak karşımıza çıkmaktadır (7, 103, 106, 122, 123).

MRSA suşları, yaygın buldukları kliniklerdeki hastane enfeksiyonu hızını tek başlarına artırmaktadırlar. Tek bir vaka ile başlayan salgınlar YBÜ'lerinde MRSA enfeksiyonlarında mortalite ve morbiditede belirgin artışa neden olmaktadır.

Hastanelerde MRSA ile mücadelede enfeksiyonların önlenmesi kadar kolonizasyonun önlenmesi de önem taşımaktadır (124). Kolonizasyonu olan hastaların tespiti ve taşıyıcılığın sonlandırılması, MRSA bulaşını ve enfeksiyon hızını düşürmektedir (13).

Nazal mupirosin uygulaması taşıyıcılığın kontrolünde etkin bir alternatif olarak sunulmaktadır. Özellikle cerrahi ve hemodiyaliz hastalarında nazal mupirosin uygulamasıyla dekolonizasyonun, enfeksiyon oranlarında belirgin olarak azalmayla sonuçlandığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (125). MRSA, topikal mupirosin uygulamasıyla burundan uzaklaştırıldığında çoğu taşıyıcılarda diğer vücut bölgelerinden de kaybolmaktadır. Aynı suşla tekrar kolonizasyon genellikle mümkün olmamaktadır. Bu durum lokal immün yanıtın varlığını göstermektedir (75).

Fawley ve ark.'larının yaptığı çalışmada dört yıl süre ile cerrahi kliniklerinde pre-operatif MRSA kolonizasyonunda eradikasyon için başarı ile kullanılmış, dört yıllık bir süre sonunda mupirosine karşı belirgin bir direnç gelişmediği bildirilmiştir (126). Von Rijen ve ark.'larının yaptığı randomize kontrollü çalışmada, kolonizasyonu olan hastalardan intranazal mupirosin uygulanan grupta enfeksiyon gelişimi, kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalmış olarak belirtilmektedir (127). Ridenour ve ark.'larının yaptığı çalışmada intranazal mupirosin uygulanmasının yoğun bakım ünitesi hastaları arasında MRSA kolonizasyonunun yayılımını ve MRSA enfeksiyonu gelişimini önlediği gösterilmiştir (128).

Çalışmamızda MRSA veya MSSA kolonizasyonu saptanan hastalara 5 gün 2x1 topikal mupirosin pomad uygulandı. Hastalar 4 hafta takip edildi. İnanazal mupirosin uygulanan hastalardan takip eden haftalarda alınan surveyans kültürlerinde *S.aureus* üremesi saptanmadı.

Taşıyıcılığın saptanmasıyla ilgili en önemli dezavantaj kültür sonuçlarının geleneksel yöntemlerle değerlendirilmesi ve metisilin direncinin belirlenmesi için en az 48-72 saatlik bir süreye ihtiyaç olmasıdır. MRSA tanımlaması için geliştirilen hızlı tanı yöntemleri, lateks aglütinasyon testleri ve PCR ile bu süre belirgin olarak kısalmaktadır (87, 91).

Nozokomiyal MRSA suşlarının hastane ortamında hızla yayılmaları, betalaktam antibiyotikler yanında diğer birçok antibiyotiğe de dirençli olabilmeleri nedeniyle tedavideki zorluk ve maliyet artışı metisilin direncinin kısa sürede, doğru

olarak tespit edilmesini gerekli kılmaktadır. MRSA suşlarında özellikle yüksek düzey heterojen direncin varlığı nedeniyle dirençli suşlar sıklıkla gözden kaçabilir. Fenotipik yöntemlerle metisilin direncinin saptanması, test koşullarından etkilenmektedir (İnokulum miktarı, inkübasyon ısı ve süresi, ortamın pH'sı ve NaCl konsantrasyonu gibi). Disk difüzyon yönteminde, oksasilin diski yerine test koşullarından daha az etkilenen sefoksitin diski kullanımı önerilmektedir. Metisilin direncinin tespitinde *mecA* gen bölgesinin gösterilmesi, en güvenilir yöntem olarak kabul edilmektedir. Bu gen bölgesi PCR ya da DNA prob yöntemleri ile saptanabilmektedir. En önemli avantajları hızlı ve doğru sonuç vermeleri olan bu yöntemlerin, dezavantajları test başına maliyetlerinin yüksek olmasıdır (85, 87, 91, 129).

Soloaga ve ark.'ları 79 *mecA* pozitif, 21 *mecA* negatif *S. aureus* izolatını disk difüzyon, agar dilüsyon, oksasilin agar tarama testi ve MRSA-Screen Latex (Denka Seiken, Niigata, Japan) ile test ettikleri bir çalışmada bütün testlerin duyarlılığı %95-100 arasında bulunmuş, fakat lateks aglütinasyon testinin sonucu 15 dakika içerisinde verebilmesi önemli bir avantaj olarak değerlendirilmiştir. Ancak PCR testi gibi direkt örnekten çalışılmaması aynı gün sonuç vermesini engellemektedir (130). YBÜ'de MRSA kolonizasyonunun tespitinde süreyi kısaltmak için PCR'ın kullanıldığı bir başka çalışmada ise geleneksel kültür kullanıldığında 81 saat olan sürenin kültür bazlı PCR testi ile 21 saate düştüğü rapor edilmiştir (131).

Sancak ve ark.'ları, 248 *S. aureus* suşunda metisilin direncinin tespitinde disk difüzyon testinin duyarlılık ve özgüllüğünü %100 olarak bildirmişlerdir (132). Kolbert ve ark.'ları, 155 *S. aureus* izolatında *mecA* pozitif sonuçları oksasilin DDT'ni karşılaştırmış, DDT sonuçlarıyla uyumlu bulmuşlardır. Ancak metisiline dirençli izolatları tanımlamada genotipik yöntemlerin duyarlı ve güvenilir olduğunu, duyarlılık testlerinin fenotipik değişikliklerden etkilendiğini belirtmişlerdir (133).

Han ve ark.'ları tarafından yapılan çalışmada, YBÜ'lerinde yatan hastalardan alınan 340 nazal sürüntü örneğinde MRSA tesbiti için kromojenik besiyerleri PCR yöntemi ile karşılaştırılmış; kromojenik besiyerlerinin duyarlılık ve özgüllükleri 24 ve özellikle 48 saatlik inkübasyon sonrasında oldukça yüksek bulunmuştur (134). Farklı çalışmalarda, MRSA kolonizasyonunun hızlı tanısında kullanılan PCR ile kromojenik besiyerleri karşılaştırılmış. Duyarlılık ve özgüllüğü oldukça iyi bulunan

kromojenik besiyerleri sürüntü örneklerinden direkt çalışılması ile hızlı tanı yöntemi olarak kabul edilsede, 18-24 saatlik inkübasyon gerektirdiği için PCR erken tanıda daha avantajlı bulunmuştur (135).

MRSA lateks aglütinasyon testinin PCR yöntemi ile karşılaştırıldığı çeşitli çalışmalarda, lateks aglütinasyon testi kolay ve hızlı bir test olarak tanımlanmıştır. Duyarlılık ve özgüllüğünün yüksek olduğu belirtilmiştir. Caurwelier ve ark.'ları, 155 MRSA suşunda DDT (oksasilin ve sefoksitin diskleri kullanarak), oksasilin agar tarama ve lateks aglütinasyon testinin duyarlılık ve özgüllüklerini, PCR yöntemini altın standart olarak karşılaştırmışlardır. Test sonuçlarını birbirine yakın duyarlılık ve özgüllükte bulmuşlardır (136). Benzer bir çalışmada Telli ve ark.'ları, fenotipik testlerin duyarlılıklarını %98,8, %98,3 (DDT), %97,7 (oksasilin agar tarama yöntemi), %98,8 (lateks aglütinasyon testi), özgüllüklerini ise sırasıyla %99,1, %99,1, %97,4, %98,3 olarak bulmuşlardır (137).

Çalışmamızda MRSA kolonizasyonunun tespiti için real-time PCR, DDT (oksasilin, sefoksitin) DDT, oksasilin agar tarama yöntemi, kromojenik agar, lateks aglütinasyon testi kullanıldı. Real-time PCR altın standart test olarak kabul edildi. PCR testi ile fenotipik testlerin sonuçları istatistiksel olarak incelendiğinde fenotipik testlerin tamamı uyumlu bulundu. Tüm testlerin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla %98,0 ve 99,6 olarak saptandı.

CDC'nin verilerine göre, her yıl MRSA enfeksiyonu nedeniyle yaklaşık 126.000 kişi hastaneye yatırılmakta ve yaklaşık 19.000 ölüm görülmektedir. Araştırmacılara göre, Amerika'daki hastanelerde MRSA enfeksiyonlarının tedavi harcamaları yıllık 3,2 milyon \$ ile 4,2 milyon \$ arasında tahmin edilmektedir. Yine başka bir araştırmada MRSA enfeksiyonu olan her hasta için yapılan tıbbi harcamalar 27.083 \$ ve 34.900 \$ olarak hesaplanmıştır (138).

Cosgrove ve ark.'nın 2005 yılında yayınlanan 348 *S. aureus* bakteremisi olan hastanın dahil edildiği çalışmalarında MRSA ve MSSA bakteremisi olan hastalarda mortalite benzer (%22,9 - %19,8) bulunurken çok değişkenli değerlendirmede metisilin direnci olması halinde hastanede yatış süresi ve tedavi maliyetinin istatistiksel olarak anlamlı yükseldiği saptanmıştır. MSSA bakteremisi ile karşılaştırıldığında MSSA bakteremisi olması hastanede kalış süresinde 2 gün uzamaya ve 6.916 \$ maliyet artışına neden olmuştur. Aynı çalışmada MRSA

bakteremisi geliştikten sonra ortalama 19.212 \$ tedavi maliyeti olduğu belirtilmiştir (139). Bu nedenle MRSA enfeksiyonlarının önlenmesinin tedavi harcamalarının azaltılmasında da önemli olduğu belirtilmiştir. Başka bir çalışmada; MRSA enfeksiyonu olan hastaların hastanede yatış süresinin MSSA enfeksiyonu olan hastalardan yaklaşık 10 gün daha uzun olduğu tesbit edilmiş ve hastanelerde MRSA enfeksiyonlarının artması ile oluşan mali yükün, MRSA enfeksiyonu olan hastaların hastanede (özellikle YBÜ'lerinde) yatış sürelerinin uzamasından kaynaklandığı belirtilmiştir (140).

Birçok çalışmada, MRSA taşıyıcılığının erken tespiti için direkt hasta örneklerinden çalışılan duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek hızlı real-time PCR testlerinin kullanılması önerilmektedir. Bununla birlikte MRSA PCR testinin geniş kapsamlı, büyük hasta gruplarında kullanımı yüksek maliyetlerden dolayı önerilmemektedir (141-143). Bu nedenle hızlı PCR testinin tarama amacıyla kullanılacağı hasta grupları iyi seçilmelidir (144). Murillo ve ark.'larının, Yenidoğan ve erişkin YBÜ'lerinde yatan hastaların dahil edildiği çalışmalarında, MRSA kolonizasyonun hızlı tanı (PCR ile) ve tedavisiyle MRSA enfeksiyonlarının, yayılmasının ve tedavi harcamalarının azaltıldığı belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada PCR testinin ek maliyetlerinin bile gelececek MRSA enfeksiyonlarının tedavi harcamalarına göre az olduğu belirtilmiştir (145).

Bühlmann ve ark.'ları tarafından yapılan çalışmada, 258 hastadan alınan örneklerden MRSA kolonizasyonunun tespiti için 3 farklı algoritma izlenmiş ve maliyetler incelenmiştir. Birinci grupta tüm örnekler hem PCR hem de geleneksel kültür yöntemleriyle çalışılmış. İkinci grupta 258 hasta içinden seçilen 34 hastaya (MRSA taşıyıcısı olan hastayla aynı odayı paylaşan, invaziv girişim uygulanan, MRSA kolonizasyon riski olan) ait örnekler hem PCR (her örnek için 162 CHF (isviçre frankı)) hem de geleneksel kültür yöntemleriyle (her bir negatif örnek için 28.35 CHF, pozitif örnek için 64.80 CHF) çalışılırken diğer örnekler sadece geleneksel kültür yöntemleriyle çalışılmıştır. Üçüncü gruptaki hastalara ait örnekler ise sadece geleneksel kültür yöntemleriyle çalışılmış ve kültür sonuçları beklenen hastalara izolasyon (ortalama 3 gün) uygulanmıştır. (Her bir hasta için bir günlük maliyet 301 CHF). Seçilen hasta örneklerinde PCR testi yapılan grupta maliyet, tüm hastalara PCR uygulanan gruptaki maliyetlere göre oldukça az bulunmuştur. Bu

sonuçlara göre PCR testinin hızlı tanıda çok yararlı olduğu ve tarama amacıyla kullanılacağı hasta grupları ve klinikleri uygun seçilirse maliyetin de azalacağı belirtilmiştir (146).

Bizim çalışmamızda da, MRSA taşıyıcılığının tespiti için kullanılan kültür bazlı testlerin (disk difüzyon testi, oksasilin agar tarama yöntemi, kromojenik agar ve lateks aglütinasyon testi) birim maliyetleri real-time PCR testine göre oldukça düşük olmasına ve testlerin duyarlılık ve özgüllükleri oldukça yüksek bulunmasına rağmen real-time PCR testi ile sonuç 2 saat içinde alınırken, kültür bazlı testlerle 24-48 saat sonra alınmıştır. Bütün bunlara ilave olarak da MRSA taşıyıcılığının real-time PCR testi ile erken saptanıp, topikal mupirosin uygulamasıyla eradikasyonunun toplam maliyetinin (74.8 TL), MRSA enfeksiyonu gelişmesi durumundaki toplam maliyete (antimikrobiyal tedavi harcaması ve YBÜ’nde ek yatış süresinden dolayı oluşan maliyet dahil 2.800 TL) göre daha düşük olduğu saptandı.

Cunningham ve ark.’ları tarafından yapılan çalışmada, MRSA kolonizasyonu olan hastaların erken tespiti ve dekolonizasyonu MRSA enfeksiyonu yayılımını önlemenin temel yolu olarak gösterilmiştir. Bu nedenle yoğun bakıma kabul edilen hastalardan alınan kültürlerin geleneksel yöntemlere (24-48saat) göre hızlı sonuçlanan PCR testi (2 saat) ile çalışılmasının nozokomiyal MRSA enfeksiyonunun yayılmasında önemli derecede azalma sağladığı belirtilmiştir (147). Bir çok çalışmada MRSA taşıyıcılığının hızlı saptanmasının, özellikle MRSA enfeksiyon hızının yüksek olduğu kliniklerde MRSA enfeksiyonunun kontrolünde en önemli basamak olduğu vurgulanmaktadır (140, 145, 148).

Çalışmamız periyodunda, hastanemiz HIKK verilerine göre, Genel Cerrahi ve Beyin Cerrahisi YBÜ’lerinde aylık ortalama MRSA enfeksiyon hızları sırasıyla 0.47 ve 3.8 olarak saptanmıştır. Aynı kliniklerde 2009 yılındaki aylık ortalama MRSA enfeksiyon hızları 0.49 ve 4.3 olarak bildirilmiştir.

Sonuç olarak; Beyin Cerrahi ve Genel Cerrahi YBÜ’lerinde bir önceki yıla ait aylık ortalama MRSA enfeksiyon hızlarında düşüş olduğu dikkati çekmektedir. Hastanemizde son yıllarda çeşitli kliniklerde VRE suşlarının (kolonizasyon ve/veya enfeksiyon etkeni olarak) ve salgınlarının görüldüğü, hastanemizde enfeksiyon etkeni olarak saptanan *S.aureus* suşlarının yaklaşık %47’sinin MRSA olduğu (bu oran YBÜ’lerinde %90’ı aşmaktadır) ve MRSA suşlarının hastane içi yayılım hızlarının

yüksek olduğu, MRSA kolonizasyonu saptanan hastaların yarısından fazlasında MRSA enfeksiyonu geliştiği, ayrıca MRSA enfeksiyonundan kaynaklanan ek mali yükün hızlı real-time PCR testinin maliyetinden yaklaşık 37 kat fazla olduğu da göz önüne alındığında hastanemizde öncelikle seçilmiş hasta gruplarında (YBÜ hastaları, onkoloji hastaları gibi) kliniklere kabulde mutlaka MRSA taşıyıcılığının hızlı saptanmasının gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi ve Beyin Cerrahisi YBÜ'lerinde tedavi gören 306 hasta çalışma kapsamına alındı. Hastalardan YBÜ'ne yattıkları ilk 48 saatte ve daha sonra haftada bir kez alınan nazal ve aksiller sürüntü örneklerinde MRSA varlığı, DDT (Oksasilin ve sefoksitin diskleri kullanılarak), oksasilin agar tarama yöntemi, lateks aglütinasyon testi, kromojenik agarda üreme özellikleri ve real-time PCR yöntemi ile araştırıldı. Hastalardan alınan iki nazal ve iki aksiller olmak üzere 4 sürüntü örneği laboratuvara ulaştırıldığında, her hastaya ait birer nazal ve aksiller sürüntü örneği real-time PCR testi ile çalışıldı ve MRSA taşıyıcıları 2 saat içinde tespit edilerek, bu hastalara 5 gün 2x1 topikal mupirosin uygulandı. Diğer sürüntü örnekleri ise fenotipik yöntemlerle çalışıldı.

İlk 48 saatte 49 hastada *S.aureus* kolonizasyonu saptandı. *S.aureus* kolonizasyonu saptanan hastalarda saptanmayan hastalara göre santral venöz katater uygulaması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). İlk 48 saatte saptanan 49 *S.aureus* suşunun 19'u MRSA olarak tespit edildi. İlk 48 saat içinde, MRSA taşıyıcılık oranlar Genel Cerrahi ve Beyin Cerrahi YBÜ'nde sırasıyla %8,6 (8/93) ve %5,2 (11/213) olarak bulundu. MRSA kolonizasyonu saptanan hastalarda saptanmayan hastalara göre hastane öyküsü varlığı ve mekanik ventilatör kullanımı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). MRSA kolonizasyon insidansının 7. gün %16 (15/97) iken 2. haftada %38,4 (10/26) olduğu bulundu. Çalışma süresi içinde toplam 99 hastada *S.aureus* kolonizasyonu saptandı ve bu suşlardan 49'u MRSA olarak tesbit edildi. Kolonizasyonu tesbit edilip, mupirosin uygulanan hastalar 4 hafta takip edildi ve kontrol kültürlerinde *S.aures* üremesi saptanmadı.

Çalışmaya dahil edilen hastalardan 7'sinde (%0.02) MRSA enfeksiyonu saptandı. Bu hastalardan 2'sinde MRSA kolonizasyonu olmaksızın MRSA enfeksiyonu gelişti. Hastaların 5'inde ise YBÜ'ne kabul edildikleri sırada hem MRSA enfeksiyonu mevcuttu ve bu hastalardan ilk 48 saat içinde alınan surveyans kültürlerinde MRSA nazal kolonizasyonu saptandı. Kolonizasyon saptanıp, topikal mupirosin uygulaması yapılan hastaların hiçbirinde MRSA enfeksiyonu gelişmedi. MRSA enfeksiyonu saptanan hastalarda saptanmayan hastalara göre MRSA

kolonizasyonu, antibiyotik kullanma, yatışta enfeksiyon varlığı ve invaziv girişim istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$).

PCR testi ile fenotipik testlerin sonuçları istatistiksel olarak incelendiğinde fenotipik testlerin tamamı uyumlu bulundu. Tüm testlerin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla %98,0 ve 99,6 olarak saptandı.

Çalışmamız periyodu içinde; bir hastadaki MRSA taşıyıcılığının real-time PCR testi ile erken saptanıp, topikal mupirosin uygulamasıyla eradikasyonunun toplam maliyetinin (74,8 lira), MRSA enfeksiyonu gelişmesi durumundaki toplam maliyete (2.800 lira) göre daha düşük olduğu saptandı. Ayrıca, hastanemiz HIKK verilerine göre, Genel Cerrahi ve Beyin Cerrahisi YBÜ'lerinde 2009 yılında sırasıyla 0.49 ve 4.3 olan aylık ortalama MRSA enfeksiyon hızları, bizim çalışmamız periyodu içinde ise 0.47 ve 3.8 olarak saptandı. Çalışmamızda MRSA taşıyıcılığının erken saptanması ve eradikasyonu ile bu bölümlerde MRSA enfeksiyon hızının azaldığını gözlemledik.

MRSA kolonizasyonunu erken saptamada real-time PCR yönteminin kullanılması, (MRSA enfeksiyon hızının ve/veya MRSA enfeksiyonu gelişme olasılığının yüksek olduğu birimlerde) enfeksiyondan kaynaklanan mali yükün yanında göz ardı edilebilir.

KAYNAKLAR

1. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Jones RN, Beach M and the SENTRY Participants Group. Survey of Infections due to *Staphylococcus species*: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997-1999. Clin Infect Dis. 2001;32 (Supple 2): S 114-132
2. Moreillon P, Que Y, Glauser MP. *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock) In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, (eds). Principles and Practice of Infectious Disease. 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone. 2005;2321-2351
3. Gould IM. The clinical significance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Hospital Infection (2005) 61, 277-282.
4. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med 1998;339:520-52.
5. Loweday HP, Pellowe CM, Jones SR, Pratt RJ. A systematic review of the Evidence for interventions for the prevention and control of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (1996-2004): Report to Joint MRSA Working Party (Subgroup A) Journal of Hospital Infection (2006), 1-26.
6. Şardan YÇ. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ve kontrolü. Hastane Enfeksiyonları Dergisi 2000;4:205
7. Çetinkaya Y. Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi ve Kontrolü. Sterilizasyon Dezenfeksiyon ve Hastane Enfeksiyonları 2002; 317-334.
8. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. J Antimicrob Chemother. 1997;40:135-6.
9. Smith TL, Pearson ML, Wilcox KR, et al. Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. N Eng J Med. 1999;340:493-501

10. Fridkin SK. Vancomycin- intermediate and- resistant *Staphylococcus aureus*: what the infectious disease specialist needs to know. Clin Infect Dis.2001;32:108-15
11. Chang S, Sievert DM, Hageman JC. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene. N Engl J Med, 2003;348:1342-1347
12. Çetinkaya Y, Ünal S. Stafilokok nazal taşıyıcılık: Önemi ve Tedavisi Hastane Enfeksiyonları Dergisi 1999; 3: 22–32
13. Dündar V. Metsiline dirençli Stafilokok Enfeksiyonları. Klimik Dergisi Cilt 13, Özel sayı 2000; 26-27
14. Waldvogel FA: *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock) In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds), Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone; 2000: 2069 – 2092
15. Cengiz AT *Staphylococcus*. Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji kitabından. Güneş Kitabevi, Ankara; 1999: 339-346
16. Maranan MC, Moreira B, Boyle-Vavra S, Daum RS. Antimicrobial resistance in *Staphylococci*. Infect Dis Clin North Am 1997; 11: 813-849.
17. Ploy MC, Grelaud C, Martin C, de Lumley L, Denis F. First Clinical Isolate of Vancomycin- Intermediate *Staphylococcus aureus* in a French hospital. Lancet 1998; 351:1212.
18. McManus J. Vancomycin resistant *Staphylococcus* reported in Hong Kong. BMJ 1999; 318 : 626.
19. Mi-Na K, Pai CH, Woo JH, Ryu JS, Hiramatsu K. Vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* in Korea. J Clin Microbiol 2000; 38: 3879-81.
20. Centers for Disease Control and Prevention. *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin-Japan States 1997. MMWR 1997; 46: 624-6.

21. Centers for Disease Control and Prevention. *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin-United States 1997. MMWR 1997; 46: 765-6.
22. Centers for Disease Control and Prevention. *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin-Illinois, 1999. MMWR2000; 48: 1165-7.
23. CDSC. *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin-United States.MMWR 2002;51 (26):565-7.
24. The gram-positive cocci: Part 1: Staphylococci and related organism. In: Alen S, Koneman E, Janda W, Schreckenberger P, Winn W, Woods G, Procop G.Eds. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th Ed, Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins, 2006: 539-576.
25. Bannerman TL. *Staphylococcus*, *Micrococcus* and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In Murray PR., Baron EJ., Jorgensen JH., Pfaller MA., Tenover FC, Tenover FC. (Ed.) *Manual of Clinical Microbiology*. 8th Ed. Washington: DC, 2003: 384-404.
26. Peacock SJ. *Staphylococcus*. In Borriello SP, Murray PR, Funke G. (Ed). *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. 10th Ed. Hodder Arnold, London, United Kingdom.2005: 771-832.
27. Kawamura Y, Hou XD, Sultana F et al. Distribution of *Staphylococcus* species among human clinical specimens and emended description of *Staphylococcus caprae*. *J Clin Microbiol*, 1998; 36(7):2038-20
28. Kahl B, Herrmann M, Everding AS, et al. Persistent infection with small colony variant strains of *Staphylococcus aureus* in patients with cystic fibrosis. *J Infect Dis* 1998; 177:1023-9.
29. Proctor RA, Kahl B, von Eiff C, Vaudaux PE, Lew DP, Peter G. Staphylococcal small colony variants have novel mechanisms for antibiotic resistance. *Clin Infect Dis* 1998; 27(Suppl 1):S68-74.
30. Kipp F, Becker K, Peters G, von Eiff C. Evaluation of different methods to detect methicillin resistance in small-colony variants of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2004; 42:1277-9.

31. Spanu T, Romano L, D'Inzeo T et al. Recurrent ventriculoperitoneal shunt infection caused by small-Colony variants of *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 2005;41:48-52.
32. Tünger A. *Staphylococcus aureus*: Mikrobiyoloji, patogenez ve epidemiyoloji. In: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. *Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004; 9-22.
33. Grüneberg RN. Anti-Gram positive agents: What we have and what we would like. *Drugs* 1997; 6:29-38
34. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev*, 2000; 13:16-34.
35. Rice LB, Sahm D, Bonomo RA. Mechanism of resistance to antimicrobial agents. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, White
36. Gür D. Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2008: 243-257.
37. Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, et al. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol* 2001;9:486-93.
38. Gregory PD, Lewis RA, Curnock SP, et al. Studies of the repressor (BlaI) of beta-lactamases. *Trends Microbiol* 1994; 2: 372-80.
39. Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, *Staphylococcus* cassette chromosome *mec*, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44Ç:1549-55.
40. Hiramatsu K, Katayama Y, Yuzawa H et al. Molecular genetics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol*, 2002; 292:67-74.
41. Kuroda M, Ohta T, Uchiyama I, et al. Whole genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet*, 2001; 357:1225-1240.

42. Ito T, Okuma K, Ma XX et al. Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC. *Drug Resist Update*, 2003; 6:41-52.
43. Ünal S. *Staphylococcus aureus*: Direnç mekanizmaları. In: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. *Grampozitif bakteri infeksiyonları*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004: 23-38.
44. Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: Molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*, 1997;10:781-91.
45. Hanssen AM, Ericson Sollid JU. SCCmec in staphylococci: genes on the move. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2006; 46:(1):8-20.
46. Martins A, Cunha MRS. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* and Coagulase negative staphylococci: epidemiological and molecular aspects. *Microbiol Immunol*, 2007; 51(9):787-795.
47. Zhang K, McClure JA, Elsayed S et al. Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome mec types I to V in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, 2005; 43:5026-5033.
48. Ito T, Katayama Y, Asada K et al. Structural comparison of three types of Staphylococcal cassette chromosome in methicillin resistant *Staphylococcus*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001; 45:1323-1336.
49. Ito T, Ma XX, Takeuchi F et al. Novel type V staphylococcal cassette chromosome mec driven by a novel cassette chromosome recombinase, ccrC. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004; 48:2637-2651.
50. Ma XX, Ito T, Tiensasitorn C et al. Novel type of staphylococcal cassette chromosome mec identified in community-acquired methicillin –resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002; 46:1147-1152.

51. François P, Renzi G, Pittet D et al. A novel multiplex real-time PCR assay for rapid typing of major staphylococcal cassette chromosome mec elements. *J Clin Microbiol*, 2004; 42:3309-12.
52. Ayaz C. Beta laktamların genel özellikleri ve penisilinler. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2008: 266-278.
53. Bachi BB, Rohrer S. Factors influencing methicillin resistance in staphylococci. *Arch Microbiol*, 2002;178:165-171.
54. Topçu AW, Koç MM. Kinolonlar. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2008: 341-355.
55. Hooper DC. Fluoroquinolone resistance among gram-positive cocci. *Lancet Infect Dis* 2002;2:530-8
56. Panlilio AL, Culver DH, Gaynes RP, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S.hospitals, 1975–1991. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1992; 13:582–586.
57. Drews TD, Temte JL, Fox BC. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: review of an emerging public health concern. *WMJ*, 2006; 105:52–57.
58. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, et al. Community-acquired Methicillinresistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg Infect Dis*, **2003**; 9:978–984.
59. Jevons MP, Coe AW, Parker MT. Methicillin resistance in staphylococci. *Lancet*, 1963; 1:904–907.
60. Centers for Disease Control and Prevention. Four pediatric deaths from community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Minnesota and North Dakota, 1997 1999. *JAMA* 1999; 282:1123 5.
61. Appelbaum, PC.: Microbiology of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*, 45 Suppl 3: S165-70, 2007.

62. Shorr, AF.: Epidemiology of staphylococcal resistance. *Clin Infect Dis*, 45 Suppl 3:S171-6, 2007.
63. Styers D, Sheehan DJ, Hogan P, et al. Laboratory-based surveillance of current antimicrobial resistance patterns and trends among *Staphylococcus aureus*: 2005 status in the United States. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2006; 5:2.
64. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System. NNSI System Report, data summary from January 1992 through June 2004. *Am J Infect Control*, 2004; 32:470-485.
65. Derbentli Ş. Cerrahi infeksiyonlarda dirençli Gram pozitif bakteri sorunu. *ANKEM Derg*, 2004; 18:215-221.
66. Derbentli Ş. Sitafilokoklarda antibiyotik direnci: 2003-2004 Türkiye haritası. *ANKEM Derg*, 2005; 19:54-60.
67. Boyc K, Bartels MD, Andersen 15, Möller JA, Westh øt: A new multiplex PCR for easy screening of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* SCC mec types I-V. *Clin Microbiol Infect* 2007;13(7):725-727.
68. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H, et al: Community-Acquired Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Carrying Panton- Valentine-Leukocidin Genes: Worldwide Emergence, *Emerg Infect Dis* (2003); 9(8):978- 984
69. Shukla KS, Stemper ME, Ramaswamy VS, Conradd JM, Reich R, Graviss EA, Reed KD: Molecular Characteristics of Nosocomial and Native American Community- Associated Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* clones from Rural Wisconsin. *J Clin Microbiol* 2004;42(8):3752-3757.
70. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*, 2005; 5:751–762.
71. Herwaldt LA. *Staphylococcus aureus* nasal carriage and surgical-site infections. *Surgery*, 2003; 134:2–9.

72. Von Eiff C, Becker K, Machka K, Stammer H, Peters G. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Study Group. *N Engl J Med*,2001; 344:11–16.
73. Dündar V,Oztürk Dündar D. Stafilokok infeksiyonları Willke Topcu A(editor) İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt 2 Etkenlere göre infeksiyonlar. 2002 Nobel Tıp Kitapevleri; 1507-1516
74. Nasal carriage of *S. aureus* and prevention of nosocomial infections. *Infection* 33.2005.No.1
75. Kluytmans J, van Belkum A,Verburgh H: Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:505-520
76. Nouwen JL, van Belkum A, Verbrugh HA: Determinants of *Staphylococcus aureus* nasal carriage.*Neth J Med* 2001;59:126-133
77. Forbes BA, Sahn DF, Weissfeld AS. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology 11th edition 2002 by Mosby, Inc.
78. Salgado, C. D., B. M. Farr, and D. P. Calfee. 2003. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a meta-analysis of prevalence and risk factors. *Clin. Infect. Dis.* 36:131-139.
79. Klevens et al JAMA 2007 journal of clinical microbiology, July 2006, p.2423–2427
80. H.C. Maltezou, H.Giamarellou . *International Journal of Antimicrobial Agents* 27 (2006) 87-96
81. Ruben FL, Norden CW. *Staphylococcal Infections*.In Evans AS, Brachman SP, eds. *Bacterial Infections of Humans*. 2th ed. New York: Plenum Medical Book Company, 1991:621-7
82. Giacometti A, Cirioni O, Schimizzi AM. Epidemiology and microbiology of surgical wound infections. *J Clin Microbiol.* 2000;38:918-922
83. Elston DM. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Am Acad Dermatol* doi:10.1016/j.jaad.2006.04.018.

94. Harmsen D, Claus H, Witte W, Rothganger J, Claus H, Turnwald D, et al. Typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital setting by using novel software for *spa* repeat determination and database management. *J Clin Microbiol*, 2003; 41:5442-8.
95. Aanensen, DM and Spratt, BG. The multilocus sequence typing network: mlst.net. *Nucleic Acids Res*, 2005; 33:728–733.
96. Arman D. Vankomisin ve Diğer Glikopeptid Antibiyotikler. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul;2002:252-257.
97. Murray BE, Nannini EC. Glycopeptides (vancomycin and teicoplanin), streptogramins (quinopristin-dalfopristin), and lipopeptides (daptomycin). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, (eds). Principles and Practice of Infectious Disease. 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005:417- 434.
98. Shorr AF, Susla GM, Kollef MH. Linezolid for treatment of Ventilator-associated pneumonia: a cost effective alternative to vancomycin. *Crit Care Med* 2004; 32:137-143.
99. Bradford PA: Tigecycline: A first in class tygecycline, *Clin Microbiol Newsletter* 2004;26(21):163-8.
100. Gündeş SG. Fusidik asit. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2008: 358-362.
101. Felek S. Mupirosin. In: Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. *Güncel Bilgilerde Antibiyotikler*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2003: 427-430.
102. Scheneider-Lindner V, Delaney JA, Dial S, Dascal A, Suissa S: Antimicrobial Drugs and Community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, United Kingdom. *Emerg Infect Dis* 2007;13(7):994-1000.
103. Doğanay M, Unal S.(editorler). Hastane infeksiyonları. Bilimsel Tıp, Ankara, 2003

104. Karna G, Öncel S. Sağlık personeli ve el yıkama uygulamaları. Hastane infeksiyonları dergisi 1997;1:57-60
105. Pitter D, Hugonnet S, Harbarth S. Effectiveness of hospital wide programme to improve compliance with hand hygiene. Lancet. 2000;356:1307-1312
106. HICPAC-Centers for Disease Control and Prevention. Draft guideline for isolation precautions: preventing transmission of infectious agents in healthcare settings 2004. Federal Register 2004; 69:33034
107. Doebbeling BN, Breneman DL, Neu HC, Aly R. Elimination of *Staphylococcus aureus* nasal carriage in health care workers: analysis of six clinical trials with calcium mupirocin ointment. The Mupirocin Collaborative Study Group. Clin Infect Dis. 1993 Sep;17(3):466-74
108. Fischetti VA. Novel method to control pathogenic bacteria on human mucous membranes. Ann NY Acad Sci 2003;987:207-214
109. Ridenour GA, Wong ES, Call MA, Climo MW; Duration of colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among patients in the intensive care unit: implications for intervention. Infect Control Hosp Epidemiol 2006 Mar;27(3):271-8. Epub 2006 Feb 28.
110. Aygen B. Stafilokok infeksiyonlarında klinik ve tanı. 8. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 6-10 Ekim 1997, Kongre Kitabı, Antalya, ss 331-338.
111. Boeleart JR: *Staphylococcus aureus* infection in haemodialysis patients. Mupirocin as a topical strategy against nasal carriage: a review. J Chemother 1994; 6(supl.2):19-24
112. Lucet JC, Chevret S, Zaleski ID, Chastang C, Re'gnier B; Prevalence and Risk Factors for Carriage of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* at Admission to the Intensive Care Unit Results of a Multicenter Study. for the Multicenter Study Group Arch Intern Med. 2003;163: 181-188
113. Sancak B, Günalp A. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi yoğun bakım üniteleri hastalarında metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*'a bağlı kolonizasyon ve infeksiyon. Mikrobiyoloji Bülteni 1999;33: 267-76

114. Haddadin AS, Fappiano SA, Lipsett PA. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the intensive care unit. *Postgrad Med J* 2002;78:385-392.
115. Lu PL, Chin LC, Peng CF, Chiang YH, Chen TP, Ma L, Siu LK. Risk factors and molecular analysis of community methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage. *J Clin Microbiol* 2005;43(1):132-139.
116. Marshall C, Harrington G, Wolfe R, Fairley CK, Wesselingh S, Spelman D. Acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a large intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.*2003 May;24(5):322-6
117. Oztoprak N, Cevik MA, Akinci E, et al. Risk factors for ICU-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Am J Infect Control.* 2006 Feb; 34(1):1-5.
118. Theaker C, Ormond-Walsh S, Azadian B, Soni N. MRSA in the critically ill. *J Hosp Infect.* 2001 Jun; 48(2):98-102.
119. Dancer SJ, Coyne M, Speekenbrink A, Samavedam S, Kennedy J, Wallace PG. MRSA acquisition in an intensive care unit. *Am J Infect Control.* 2006 Feb; 34(1):10-7.
120. Coello R, Glynn JR, Gaspar C, Picazo JJ, Fereres J. Risk factors for developing clinical infection with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) amongst hospital patients initially only colonized with MRSA. *J Hosp Infect.* 1997 Sep;37(1):39-46.
121. Erbay H, Yalcin AN, Serin S. et al Nosocomial infections in intensive care unit in a Turkish university hospital: a 2-year survey. *Intensive Care Med.* 2003 Sep;29(9):1482-8.
122. Gemmell CG, Edwards DI, Fraise AP, Gould FK, Ridgway GL, Warren RE; Joint Working Party of the British Society for Joint Working Party of 53 the British Society for Antimicrobial Chemotherapy, Hospital Infection Society and Infection Control Nurses Association. Guidelines for the prophylaxis and treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections in the UK. *J Antimicrob Chemother.* 2006 57(4):589-608

123. Henderson DK; Managing Methicillin-Resistant Staphylococci: A Paradigm for Preventing Nosocomial Transmission of Resistant Organisms *Am J Med* 2006; 119 (6A); S45-S52.
124. Garrouste-Orgeas M, Timsit JF, Kallel H. et al Colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in ICU patients: morbidity, mortality, and glycopeptide use. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2001Nov; 22(11):687-92.
125. Kluytmans JA, Mouton JW, Ijzerman EP. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* as a major risk factor for wound infections after cardiac surgery. *J Infect Dis.* 1995; 171:216-219
126. Fawley WN, Parnell P, Hall J, Wilcox MH. Surveillance for mupirocin resistance following introduction of routine peri-operative prophylaxis with nasal mupirocin. *J Hosp Infect.* 2006 Mar; 62(3):327-32. Epub 2005 Dec 27
127. VanRijen MM, Banten M, Wenzel RP, Kluytmans JA. Mupirocin ointment for preventing *S.aureus* infections in nasal carriers. *Evid Based Med.*2009 Aug; 14(4):110.
128. Ridenour G, Lampen R, Federspiel L, Kritchevskys, Wong E, Climo M. Selective use of intranasal mupirocin, chlorhexidine bathing and incidence of methicillin resistant *S.aureus* colonization and infection among intensive care unit patients. *Infect control Hosp.Epidemiol.* 2007 Oct; 28(10): 1155-61.
129. Rasheed JK, Tenover FC. Detection and characterization of antimicrobial resistance genes in bacteria. In Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. (Ed.) *Manual of Clinical Microbiology* 8th Ed. Washington DC, 2003; 1196-1212.
130. Soloaga R, Corso A, Gagetti P, Faccione D, Galas M; Grupo Colaborador MRSA. Methicillin resistance detection in *Staphylococcus aureus* Comparison between conventional methods and MRSA-Screen latex agglutination technique. *Rev Argent Microbiol* 2004; 36(1):36-40.
131. Harbarth S, Masuet-Aumatell C, Schrenzel J. et al Evaluation of rapid screening and pre-emptive contact isolation for detecting and controlling methicillin-

- resistant *Staphylococcus aureus* in critical care: an interventional cohort study. *Crit Care*. 2006 Feb; 10(1):R25.
132. Sancak B, Ercis S, Hasçelik G. Stafilokoklarda metisilin direncinin saptanmasında disk difüzyon yönteminin değeri ve polimeraz zincir reaksiyonu ile karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bült*, **2003**; 37:109-115.
133. Kolbert CP, Arruda J, Varda-Delmore P et al: Branched-DNA assay for detection of the *mecA* gene in oxacillin- resistant and oxacillin –sensitive staphylococci. *J Clin Microbiol*, **1998**; 36:2640-2644.
134. Han Z, Loutenbach E, Neil F, Nachamkin I. Evaluation of mannitol salt agar, Chromagar S.aureus and Chromagar MRSA for detection of methicillin-resistant S.aureus from nasal swab specimens.
135. Bischof LJ, Lapsley L, Fontecchio K, Jacosalem D.et al. Comparision of Chromogenic Media to BD GeneOhm Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) PCR for Detection of MRSA in Nasal Swabs. *Jounal of Clinical Microbiology*, July 2009, p.2281-2283.
136. Cauwelier B, Gordts B, Descheemaeker P et al. Evaluation of disk diffusion method with cefoxitin (30 microg) for detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2004;23:867-868.
137. Telli M, Sümerkan B, Eşel D. *Staphylococcus aureus*'ta metisilin direncinin belirlenmesinde sefoksitin disk, oksasilin disk, oksasilin agar tarama ve PBP2a lateks testlerinin karşılaştırılması. *İnfekDerg*, 2006; 20:93-96.
138. Murillo J, Tsang P. Faster laboratory detection of MRSA translates to cost savings for hospital.(Clinical Issues) *Medical laboratuary observer* Nov, 2008
139. Cosgrove SE, Qi Y, Kaye KS, Harbarth S, Karchmer AW, Carmeli Y. The impact of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* bacteremia on patient outcomes: mortality, length of stay, and hospital charges. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2005 Feb;26(2):166-74.
140. Jeyaratnam D, Whitty CJM, Philips K. et al. Impact of rapid screening tests on acquisition of methicillin resistant S.aureus: cluster randomised crossover trial.*BMJ* 2008; 336:927.

141. De San N, Denis O, Gassosira R. et al. Controlled evaluation of the IDI MRSA assay for detection of colonization by methicillin resistant *S.aureus* (MRSA) in diverse mucocutaneous specimens. *J.Clin.Microbial.*45:1098-1101.
142. Huletsky A, Lebel P, Picard F.J. et al. Identification of methicillin resistant *S.aureus* carriage in less than 1 hour during a hospital surveillance program. *Clin.Infect.Dis* 20:976-981.
143. Warren DK, Liaa RS, Menz LR. et al. Detection of Methicillin resistant *S.aureus* directly from nasal swab specimens by areal-time PCR assay. *J.Clin. microbiol.*42:5578-5581.
144. Kunori J, Cooksan B, Roberts JA, Stone S and Kibbler 2002. Cost-effectiveness of different MRSA screening methods. *J.Hosp.Infect.*51:189-203
145. Murillo JL. Reduction of MRSA infection after screening for nasal colonization in a neonatal intensive care unit: 42-month follow-up. Presented at: 2010 Conference on Antimicrobial Resistance; Feb. 1-3, 2010; Bethesda, MD.
146. Bühlmann M, Bögli-Stuber K, Draz S, Mühlemann K. Rapid Screening for Carriage of Methicilline- Resistant *S.aureus* by PCR and Associated Costs. *J.Clin. Microbiol.* 2008;51:210-214
147. Cunningham R, Jenks P, Northwood J, Wallis M, Ferguson S, Hunt S Effect on MRSA transmission of rapid PCR testing of patients admitted to critical care. *Journal of Hospital Infection* 2007;65:24-26.
148. Bootsma MCJ, Diekmann O and Bonten. Controlling Methicillin Resistant *S.aureus*: Quantifying the effects of interventions and rapid diagnostic testing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103:5620-5625