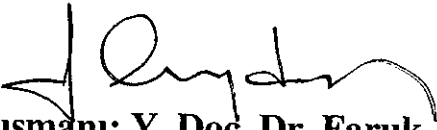


T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

HASTANE İNFEKSİYONU ETKENİ OLAN METİSİLİN DİRENÇLİ
Staphylococcus aureus SUŞLARININ ANTİBİYOTİK HASSASİYET
TESTLERİ, PLAZMİD PROFİL ANALİZİ VE POLİMERAZ
ZİNCİR REAKSİYONU İLE TİPLENDİRİLEREK EPİDEMİK
SUŞLARIN BELİRLENMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Serpil TUNCAY YETİŞKUL


Tez Danışmanı: Y. Doç. Dr. Faruk AYDIN

TRABZON, 2002

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ

1. GİRİŞ VE AMAÇ

1

2. GENEL BİLGİLER

3

2.1. Stafilokokların Genel Özellikleri

3

2.2.1. Tarihçe

3

2.1.2 Morfolojik Özellikleri

3

2.1.3. Hücre Duvarı Komponentleri

4

2.1.4. Enzimleri

4

2.1.5. Toksinleri

5

2.1.6. Biyokimyasal Özellikleri ve Sınıflandırılması

5

2.1.7. Üreme Özellikleri

6

2.2. Stafilokokların Patogenezi

6

2.2.1. Kolonizasyonu

6

2.2.2. Adezyonu

7

2.3. Antibiyotik Direnci

8

2.3.1. Metisilin Direnç Mekanizmaları

8

2.3.1.1. İntrensek Direnç

8

2.3.1.1.1. Homojen Direnç

10

2.3.1.1.2. Heterojen Direnç

10

2.3.1.1.3. Mevcut PBP'lerin beta laktam

Antibiyotiklere Afinitesinde Azalma

10

2.3.1.2. Kazanılmış Direnç (Plazmit Direnci)

11

2.4. Hastane İnfeksiyonlarında MRSA

11

2.5. Epidemik MRSA İnfeksiyonları ve Epidemiyolojik Çalışmalar

16

2.6. Sürveyans Çalışmaları

19

| | |
|--|-----------|
| 2.7. MRSA İnfeksiyonlarının Kontrolü | 20 |
| 2.7.1. MRSA İle Enfekte veya Kolonize Bir Hasta Saptandığında Yapılması Gerekenler | 21 |
| 2.7.2. Nazal MRSA Taşıyıcılarının Tedavisi | 22 |
| 2.7.3. Ciddi MRSA İnfeksiyonlarının Kontrolü | 23 |
| 2.7.4. İnfeksiyon Kontrolünde Diğer Yaklaşımlar | 23 |
| 3. MATERYAL VE METOT | 25 |
| 3.1. Materyal | 25 |
| 3.1.1. Çalışma Grubu | 25 |
| 3.1.2. Klinik Bakteri Suşları | 25 |
| 3.1.3. Kullanılan Araç ve Gereçler | 30 |
| 3.1.4. Kullanılan Besiyerleri ve Ayıraçlar | 30 |
| 3.1.5. Plazmid İzolasyonunda Kullanılan Solüsyonlar | 32 |
| 3.1.6. DNA İzolasyonunda Kullanılan Solüsyonlar | 33 |
| 3.1.7. Agaroz Jel Elektroforezi için Kullanılan Solüsyonlar | 33 |
| 3.2. Metot | 34 |
| 3.2.1. Çalışma Planı | 34 |
| 3.2.2. Klinik Örneklerin Mikrobiyolojik Yönden İncelenmesi | 34 |
| 3.2.2.1. Kültür ve İzolasyon | 34 |
| 3.2.2.2. Koagülaz Testi | 35 |
| 3.2.2.3. Katalaz Testi | 35 |
| 3.2.2.4. Antibiyotiklere İn Vitro Duyarlılık Testi | 35 |
| 3.2.3. Plazmid DNA İzolasyonu | 36 |
| 3.2.4. Plazmid DNA'larının <i>Hind</i> III Restriksiyon Enzimi ile Kesilmesi | 37 |
| 3.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi | 38 |

| | |
|---|----|
| 3.2.6. Plazmid DNA'larının Moleküler Büyükliklerinin Hesaplanması | 39 |
| 3.2.7. Epidemik ve Nonepidemik Plazmidlerin Belirlenmesi ve Gruplandırılması | 39 |
| 3.2.8. Arbitrarily Primed-Polymerase Chain Reaction (AP-PCR) | 40 |
| 3.2.8.1. <i>S.aureus</i> Kromozomal DNA İzolasyonu | 40 |
| 3.2.8.2. PCR Reaksiyonları | 40 |
| 3.2.8.3. AP-PCR Sonuçlarının Yorumlanması | 41 |
| 4. BULGULAR | 42 |
| 5. TARTIŞMA | 58 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER | 69 |
| 7. ÖZET | 73 |
| 8. SUMMARY | 74 |
| 9. KAYNAKLAR | 75 |
| EK-1 | 83 |

ÖNSÖZ

İhtisas eğitimimde bilgisini ve tecrübelerini esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Murat ERTÜRK, Doç. Dr. Ali Osman KILIÇ ve tez danışmanım, değerli hocam Y. Doç. Dr. Faruk AYDIN'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında her türlü bilgi, yardım ve moral desteğini esirgemeyen sevgili arkadaşım Y. Doç. Dr. Osman Birol ÖZGÜMÜŞ, eğitimim süresince birlikte çalıştığım, arkadaşlık ve desteklerini eksik etmeyen bölüm arkadaşlarım Y. Doç. Dr. İlknur TOSUN, Y. Doç. Dr. Neşe KAKLIKKAYA, Uzm. Dr. Kıvanç ÇUBUKÇU, Vet. Dr. Kurtuluş BURUK, Dr. Yelda YAZICI ve Dr. Metin SANCAKTAR'a teşekkür eder, eğitim hayatları ve gelecek görevlerinde başarılar dilerim.

Ayrıca, tezimde gerekli olan suşların temininde yardımlarını esirgemeyen Y. Doç. Dr. Rahmet ÇAYLAN ve Rutin Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına, Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi çalışanlarına, K.T.Ü Tıp Fakültesi Hastane İnfeksiyonlarını Önleme ve Antibiyotik Kullanım Komitesi'ne ve tez çalışmamı Y. Doç. Dr. Faruk AYDIN yürütücülüğünde 21.114.001.4 kodlu proje ile destekleyen K.T.Ü. Araştırma Fonu'na teşekkür ederim.

Öğrenim hayatım boyunca her zaman bana destek olan sevgili anneme, babama, eşime, sevgili çocuklarım Burak ve Bora'ya teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Serpil TUNCAY YETİŞKUL

2002

1- GİRİŞ ve AMAÇ

Stafilokoklar, önemli infeksiyon etkenleri olarak 100 yıldan uzun bir süredir tıp dünyasını meşgul etmektedir. Halen en sık karşılaşılan cilt ve yumuşak doku infeksiyonu, septik artrit, osteomyelit, infektif endokardit, bakteriyemi ve prostetik cihaz infeksiyonu etkenleri arasında yer alan stafilokoklar son yıllarda hastane infeksiyonları etkenleri arasında da ilk sıralarda yer almaya başlamışlardır (1).

Alexander Fleming'in penisilini keşfi (1928) ve 1940 yılında Forey ve Chain tarafından penisilinin büyük miktarlarda üretiminin başarılması ile stafilokokal infeksiyonlarının tedavisinde önemli bir aşama kaydedilmiştir. Metisilinin 1960 yılında ve daha sonra da diğer penisilnaz dirençli penisilinlerin kullanıma girmesi stafilokokal infeksiyonların tedavisinde ikinci önemli aşama olmuştur. Ancak çok kısa bir süre içerisinde (1961) stafilokoklarda metisilin direnci tanımlanmıştır (2). 1970'li yılların sonuna doğru metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşları yaygın olarak kullanılan birçok antibiyotiğe (klindamisin, kloramfenikol, tetrasiklinler, makrolid grubu antibiyotikler, rifampisin, aminoglikozidler, trimetoprim-sulfametoksazol, 1980'li yılların sonunda kinolonlar) karşı dirençli hale gelmeye başlamıştır. Çoklu antibiyotik direncinin beraberinde getirdiği tedavi güçlüğü ve nozokomiyal epidemilere yol açabilen bir patojen olması nedeniyle, metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) tüm dünyada ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir (1-3).

Metisilin duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) suşları hastalarda değişik infeksiyonlara kolaylıkla neden olabilirken, metisilin dirençli suşlar

genellikle fırsatçı bir patojen gibi hareket etmekte ve çok sayıda hasta infekte ya da kolonize olana kadar MRSA problemi gözden kaçabilmektedir (2).

MRSA infeksiyonları ile MSSA infeksiyonları arasında mortalite yönünden anlamlı bir fark bulunmadığı, ancak MRSA infeksiyonlarının hastanede yatış süresinin uzamasına ve tedavi maliyetinde artışa neden olduğu bilinmektedir (4-7).

İlk nozokomiyal MRSA epidemisinin 1963 yılında tanımlanmasını takiben, her yıl giderek artan sayıda MRSA epidemisi bildirilmiş ve günümüzde bu mikroorganizma birçok hastanede endemik hale gelmiştir (6).

Henüz MRSA için kesin bir tiplendirme sistemi tanımlanmamış, nozokomiyal epidemilerin analizinde kullanılabilecek standart bir yöntem belirlenmemiştir. Nozokomiyal epidemilerin analizinde kullanılan yöntemler MRSA suşları arasındaki fenotipik veya genotipik farklılıkları esas almaktadır (7). Bu amaçla kullanılacak bir yöntemin güvenilir olmasının yanı sıra kolay uygulanabilmesi ve hızlı sonuç vermesi de önemlidir.

Bu çalışmada hastane infeksiyonlarında etken olan MRSA suşlarının antibiyotik hassasiyet testlerinin yanısıra, moleküler tiplendirme yöntemleri (plazmid profil analizleri, plazmid DNA'ların restriksiyon enzimlerle kesim analizleri ve arbitrarly primed polimeraz zincir reaksiyonu) kullanılarak tiplendirilmesi ve hastanemizdeki epidemik suşların belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Stafilocokların Genel Özellikleri

2.1.1. Tarihçesi

Stafilokoklar, *Micrococcaceae* ailesi üyesi mikroorganizmalardır. *Staphylococcus* terimi, mikroskop altındaki karakteristik görünümüleri nedeniyle eski Yunanca'da üzüm salkımı anlamına gelen "staphyle" sözcüğünden türetilmiş ve ilk olarak İskoçyalı cerrah Alexander Ogston tarafından kullanılmıştır (1,4). 1880 yılında Ogston hastadan aldığı cerehati boyayarak, üzüm salkımına benzeyen koklar görmüş, bunlara görünümlelerinden dolayı stafilocok (stapyle=üzüm) ismini vermiştir. Rosenbach ise 1884 yılında, hastalardan alınan örneklerden, besiyerlerinde stafilocokları izole etmiştir (8).

2.1.2. Morfolojik Özellikleri

Stafilokoklar 0.7-1.2 µm çapında, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz, Gram pozitif koklardır. Çoğu fakültatif anaeroptur. Birden fazla düzlemde bölünerek çoğalan mikroorganizmaların birbirinden tam olarak ayrılmamasına bağlı olarak, özellikle katı besiyerlerinde üretildiklerinde küme yapan gruplar halinde görülürler (8,9).

Bazı kökenlerinde polisakkarit yapıda belirgin bir kapsül ya da ince bir mukus tabakası bulunup, bu yapılar polimorfonükleer lökositlerin kemotaksis ve

fagositozunu engelleyerek bakteriyi bu etkilerden korur. Ayrıca bakterilerin katater ve diğer sentetik materyallere adezyonunu kolaylaştırır (10).

2.1.3. Hücre Duvarı Komponentleri

Peptidoglikan tabaka stafilokokların hücre duvarının temel yapısal komponentidir. Glikan zincirlerinin peptid bağları ile bağlanmasıyla oluşur. Peptidoglikan tabaka polimorfonükleer lökosit kemotaksisine yol açar, endotoksin benzeri aktivitesi vardır ve opsonik antikorların üretimini uyarır (11).

Protein A, *Staphylococcus aureus*'larda peptidoglikan tabakasının dış yüzeyinde yer alan bir proteindir. Bu protein peptidoglikan tabakaya ve IgG moleküllerinin (IgG₃ hariç) Fc kısımlarına kovalent bağlarla bağlanır (10, 11).

Teikoik asit hem peptidoglikan tabakaya hem de stoplazmik membrana bağlanan fosfat içeren kompleks bir polisakkarittir. Zayıf bir immunojendir. Peptidoglikana bağlandığında spesifik antikor cevabını stimüle ederek, TNF- α (tumor necrosis factor), IL-1 (interlökin) ve IL-6 salınımını indükler (10, 11).

Sitoplazmik membran protein, lipid ve karbonhidrattan oluşan kompleks bir yapıya sahiptir. Hücre için ozmotik bir bariyerdir. Hücre sel biyosentetik ve respiratuvar enzimlerin tutunma yeridir (11).

2.1.4. Enzimleri

Stafilokokların patogeneizde önemli rol oynayan, doku yıkımına neden olan ve infeksiyonun yayılımını kolaylaştıran çok sayıda enzim (hiyaluronidaz, lipazlar, nükleazlar, proteinazlar vb.) ürettiği bilinmektedir. Polimorfonükleer lökositler (PMN) tarafından fagosite edilen stafilokokların öldürülmesi toksik oksijen radikalleri aracılığıyla olur. Katalaz, bakteri tarafından üretilen hidrojen peroksitin su ve oksijene dönüşmesini sağlayan, dolayısıyla hücre savunma mekanizmalarının aleyhine çalışan bir enzimdir. Tüm stafilokoklar özellikle

glikozlu besiyerlerinde katalaz olumludurlar. Bu özellik onları Streptococcaceae'lerden ayıran özellikleridir (9-11).

2.1.5. Toksinleri

Enzimlere ek olarak stafilokokların sistemik etkilerinin önemli bir bölümünden sorumlu olan birçok toksin salgılanmaktadır. Eritrosit membranını zedeleyen hemolitik toksinler (α , β , γ , δ), lökositin, stafilokokal soyulmuş deri sendromundan sorumlu olan eksfoliatinler (A, B), enterotoksinler (A-E) ve toksik şok sendromu toksini (TSST-1) en önemlileridir (8, 9, 11).

2.1.6. Biyokimyasal Özellikleri ve Sınıflandırılması

Staphylococcus genusu içinde birçok farklı tür bulunmaktadır: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis*, *S. schleiferi*, *S. saccharolyticus*, *S. hominis*, *S. auricularis*, *S. xylosus*, *S. simulans*, *S. capitis*, *S. cohnii* vb. Bunlar arasında insanlar için en önemli patojenler *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus*'tur (12).

S. aureus, koagülaz enzimi sayesinde plazmada bulunan protrombini aktive eder. Sonuç olarak önce trombin, ardından da pıhtılaşma sisteminin son basamaklarının arka arkaya devreye girmesiyle fibrin pıhtısı oluşur (13). Koagülaz testi, *S. aureus*'un diğer stafilokoklardan ayırdedilmesinde kullanılan en önemli testtir. İnsan veya tavşan plazması kullanılarak tüpte ya da lam üzerinde yapılabilir. Tüp koagülaz testi *S. aureus*'un belirlenmesi için en güvenilir test olup %97 oranında doğru sonuç verir (12, 13).

Stafilokoklar başta glikoz olmak üzere bir çok karbonhidratı fermentatif olarak parçalarlar ve son ürün olarak laktik asit yaparlar, gaz oluşturmazlar. Mannitole etkileri değişken olup özellikle *S.aureus* bu şekere etkilidir. Mannitol fermentasyonu ve deoksiribonükleaz testi *S. epidermidis*, novobiosin direnci ise

S. saprophyticus için tanımlayıcıdır. Klinik olarak önemli stafilokok türlerinin ayırılmasında kullanılan testler Tablo 1’de özetlenmiştir (14).

Tablo 1: Klinik olarak önemli stafilokok türlerinin ayırımında kullanılan testler

| Test | <i>S. aureus</i> | <i>S. epidermidis</i> | <i>S. saprophyticus</i> |
|------------------------|------------------|-----------------------|-------------------------|
| Koagülaz | + | - | - |
| Mannitol fermentasyonu | + | - | ± |
| Deoksiribonükleaz | + | - | - |
| Novobiosin direnci | - | - | + |

2.1.7. Üreme Özellikleri

Stafilokoklar birçok besiyerinde üreyebilirler. Kanlı agarda üreyen bakteri kolonileri yuvarlak, düzgün, kabarık, mat, S tipinde olup, *S.aureus*’un kolonileri sarı pigmentli olup, etrafında beta hemoliz görülür. *S.epidermidis* ve *S.saprophyticus*’un bazı kökenlerinde de sarı veya turuncu pigment üretir ve hemoliz yapar. Stafilokoklar %10 ve daha az NaCl içeren ortamlarda üreyebilirler (10-13).

2.2. Stafilokokların Patogenezi

2.2.1. Kolonizasyonu

Stafilokoklar normal flora elemanı olarak, vücudun değişik yerlerinde kolonize olabilirler (8). Başta nazal mukoza, nazofarinks, deri ve daha az olmak üzere bağırsak ve diğer mukozaların normal floralarında bulunan bakterilerdir. *S.aureus* sağlıklı insanların %10-40’ının ve hastane çalışanlarının ya da

hospitalize hastaların çoğunun burun deliği mukozalarında kolonize olabilirler. İnsanlarda endojen ve eksojen kaynaklı çok çeşitli hastalıklar oluşturabilirler (9).

Yerleşim bakımından *S.epidermidis* yaygın bir özellik gösterir. *S.aureus*'un bulunmaması halinde burun deliği mukozasından soyutlanan stafilokokların %90-100'ünü *S.epidermidis* oluşturur. Ayrıca aksiller, inguinal, perineal bölgeler, ayak parmaklarında ve daha az olarak derinin diğer kısımlarında kolonize olurlar. *S.hominis* ve *S.haemolyticus* aksiler, inguinal, perineal deride, *S.capitis* baş derisinde, *S.auricularis* dış kulak yolu derisinde yerleşme özelliğindedirler. *S.saprophyticus* deriden çok ürogenital mukoza epiteline yapışma özelliği gösterdiğinden daha çok bu bölgelere kolonize olmaktadır (10, 12).

İnsanlardaki stafilokok infeksiyonlarında *S.aureus* öncelikli patojen olarak yer alır. Bundan başka fırsatçı patojenler olarak *S.epidermidis*, *S.saprophyticus* sıklıkla infeksiyon yapar. Daha nadir olarak *S.haemolyticus*, *S.hominis*, *S.warneri*, *S.saccharolyticus*, *S.cohnii* ve *S.simulans*'ın fırsatçı infeksiyonlarına rastlanmıştır (8-12).

2.2.2. Adhezyonu

S. aureus hem konakçıya ait biyolojik yüzeylerde hem de implante edilmiş cihazlar üzerinde kolaylıkla kolonize olabilecek, kolonizasyonun ardından doku invazyonuna ve hastalığa yol açabilecek karmaşık bir donanımına sahiptir. Tüm infeksiyonlarda olduğu gibi konakçı savunma mekanizması ve bakteriyel virulans arasındaki denge önemlidir. *S. aureus* infeksiyonlarında ilk basamak adhezyon ve kolonizasyondur. *S. aureus*'un travmatize insan dokularında, endotelde, zedelenmiş kalp kapaklarında ve prostetik cihazlar üzerinde tutunabilmesini sağlayan çok sayıda konakçı proteini (fibrinojen, fibronektin, kollajen, vitronektin, kemik sialo protein, trombospondin vb.) saptanmıştır. Fibronektin (ekstrasellüler matris proteini), vitronektin (subendotelial dokuda yer alan bir protein), kemik sialo protein ve trombospondin (aktive olmuş

plateletlerden salınan bir protein) ile *S. aureus* arasında spesifik bir etkileşim olduğu gösterilmiştir (14-17).

2.3. Antibiyotik Direnci

Penisilinin klinik kullanıma girdiği 1940 yılından çok kısa bir süre sonra, 1942 yılında, penisilinaz denilen bir β -laktamaz aracılığıyla stafilokoklarda penisilin direnci rapor edilmiştir. Direnç oranı 1950'lerin sonlarına kadar %50'ye, 1992'ye kadarsa %95'e yükselmiştir. Penisiline dirençli stafilokokların tedavisinde 1960 yılında penisilinaza dayanıklı semisentetik penisilin olan metisilin ve türevleri (oksasilin, nafsilin, dikloksasilin gibi) geliştirilmiştir (15, 16). Stafilokoklarda metisilin direnci ise metisilinin klinik uygulamaya girmesinden kısa bir süre sonra tespit edilmiştir. Metisilin dirençli *S.aureus* (MRSA) ve metisilin dirençli koagülaz negatif stafilokok (MRKNS) suşları 1970'li yılların sonuna doğru, yaygın olarak kullanılan birçok antibiyotiğe (klindamisin, makrolid grubu antibiyotikler, kloramfenikol, tetrasiklinler, rifampisin, aminoglikozidler, trimetoprim-sulfametoksazol), 1980'li yılların sonunda ise kinolonlara karşı dirençli hale gelmeye başlamışlardır (17, 18). Aslında bu yıllardan da önce, 1958'de keşfedilmiş olan vankomisin tek tedavi seçeneği haline gelmiştir (18).

2.3.1. Metisilin Direnç Mekanizmaları

2.3.1.1. İntrensek Direnç

Metisiline hassas ve dirençli *S.aureus* suşları dört tip penisilin bağlayan protein (PBP) üretmektedirler. Bunlar 85kDa PBP1, 81kDa PBP2, 75kDa PBP3, 45kDa PBP4 proteinlerdir. PBP'ler membrana bağlı DD-peptidazlardır ve serin proteazlarınkine benzer kimyasal aktiviteleri vardır. Bu enzimler transpeptidasyon reaksiyonunu katalizler. Beta-laktam antibiyotikler bu enzimin

substratıdır ve PBP'nin aktif bölgesindeki serine kovalent bağlanırlar. PBP1, 2, 3 beta laktam antibiyotiklere yüksek afiniteye sahiptirler (19).

Stafilokoklarda metisilin direnci değişik mekanizmalarla meydana gelebilir. Bunlar içerisinde en sık karşılaşılanı intrinsek dirençtir. İntrinsek direncin stafilokoklarda yeni bir PBP sentezlenmesi (PBP2a ya da PBP2') sonucunda ortaya çıktığı bilinmektedir. Bu proteinin varlığı metisiline intrinsek olarak dirençli koagülaz pozitif veya negatif tüm stafilokoklarda gösterilmiştir. PBP2a 78 kDa ağırlığında bir protein olup beta-laktam antibiyotiklere afinitesi diğer PBP'lere oranla daha düşüktür (20). Metisilin dirençli suşlarda beta laktam antibiyotiklere düşük afinitesi olan PBP2a, yüksek afiniteli PBP'lerin rolünü üstlenerek bakteriyi bu ilaçların öldürücü etkisinden korur. Bu nedenle PBP2a taşıyan stafilokoklar beta-laktam antibiyotiklerle karşılaştıklarında diğer PBP'ler antibiyotik tarafından bloke edilir ve PBP2a tüm fonksiyonları üzerine alarak duvar sentezini devam ettirir. Moleküler biyolojik çalışmalar sonucunda PBP2a sentezinden bakteri kromozomunda yer alan 2 kb'lık bir gen olan "*mecA*"nın sorumlu olduğu gösterilmiştir. *mecA* geni yalnızca metisiline dirençli stafilokoklarda mevcuttur ve stafilokokal türler arasında çok iyi korunmuştur. *mecA* gen ürünü olan PBP2a metisilin direncini belirleyen, indüklenebilir bir proteindir. Metisilin duyarlı stafiloklarda PBP2a proteini ve *mecA* homoloğu bulunmamaktadır (18-20).

Metisiline direnç düzeyi ile sentezlenen PBP2a miktarı arasında ilişki yoktur. İntrinsek metisilin direnci taşıyan stafilokok suşları beta-laktam antibiyotiklerin yanısıra diğer bir çok antibiyotiğe de dirençlidir. Metisilin direncinin ortaya çıkabilmesi için *mecA* geninin eksprese olması gerekir. *mecA* geninin ekspresyonunun kontrolünde rol oynadığı düşünülen çok sayıda gen tanımlanmıştır. Bu genlerin birbirleri ve *mecA* geni ile etkileşimleri sonucunda iki farklı şekilde intrinsek metisilin direnci ortaya çıkar (homojen ve heterojen direnç) (20,21).

2.3.1.1.1.Homojen Direnç

Homojen direnç gösteren bir stafilokok kolonisinde bulunan tüm bakteriler *mecA* genini taşırlar ve hepsinde bu gen eksprese olmuştur. Direncin tespiti çevresel faktörlerden etkilenmez. Metisilin direnci yüksek düzeydedir. Ancak klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında izole edilen stafilokokların az kısmında metisilin direnci bu şekildedir (21).

2.3.1.1.2.Heterojen Direnç

İnfeksiyon etkeni bakterilerde daha sık görülen bir direnç türüdür. Koloniyi oluşturan tüm bakterilerin *mecA* geni taşımalarına rağmen direnç ancak 10^6 - 10^8 bakteriden birinde ekspres edilir. Osmolarite, ısı, inkübasyon süresi gibi çeşitli faktörlerden etkilenmesi nedeniyle saptanması daha güçtür. Heterojen direnç inkübasyon süresinin 48 saat olduğu, duyarlılık testlerinin %4 NaCl içeren ortamlarda ve düşük ısıda yapıldığı durumlarda daha iyi tespit edilebilmektedir (20). Heterojen direncin *mecA* geninin fonksiyonunu kontrol ettiği düşünülen *mecI*, *mecR1*, *blaI*, *blaR1* gibi genlere bağlı olarak meydana gelebileceği düşünülmektedir (21).

2.3.1.1.3.Mevcut PBP'lerin Beta-Laktam Antibiyotiklere Afinitesinde Azalma

Beta-laktamaz salgılamayan ve *mecA* geni taşımayan ancak mevcut PBP'lerin beta laktam antibiyotiklere afinitesindeki azalma nedeniyle metisiline dirençli olan çok az sayıda stafilokok izolatu tespit edilmiştir (19-21).

2.3.1.2. Kazanılmış Direnç (Plazmid Direnci)

Bakteri tarafından aşırı miktarda beta laktamaz salgılanması sonucunda metisilin'in kısmen parçalanabildiği ve metisilin direncinin ortaya çıktığı gösterilmiştir. Bu tür direnç tedavide beta laktam antibiyotik ve beta laktamaz inhibitörü kombinasyonlarıyla aşılabılır (1, 22). Çoğul direnç, konjugatif plazmidlerin direnç genleri taşıyan çeşitli transpozonlarla integrasyonu sonucu meydana gelmektedir. Bu plazmidler nonkonjugatif olanları da mobilize edebilirler (17).

2.4. Hastane İnfeksiyonlarda MRSA

Hastane infeksiyonları hastaneye başvuru anında inkübasyon döneminde olmayan , hastaların hastaneye başvurularından 48-72 saat sonra gelişen ya da hastanede gelişmesine karşın, bazen hasta taburcu olduktan sonra 10 gün içerisinde ortaya çıkabilen infeksiyonlar olarak tanımlanır. Değişik çalışmalarda nozokomiyal infeksiyonların görülme sıklığının %3.1-14.1 arasında değiştiği tespit edilmiştir (23).

Bir grup araştırmacı MRSA suşlarının hastane infeksiyonlarına neden olan metisilin hassas *S. aureus* (MSSA) suşlarına oranla daha az virulan oldukları, ancak biyolojik yüzeylere daha kolay yapışmaları nedeniyle sık kolonizasyona ve infeksiyona yol açtıkları görüşünü savunmaktadır (24). MRSA tarafından oluşturulan ilk salgınların Avrupa hastanelerinde 1960'ların başlarında ortaya çıktığı bilinmektedir. Amerika'daki hastanelerde nozokomiyal *S.aureus* izolatlarının %25'i metisilin dirençlidir. Ayrıca çok sayıda araştırmacı MRSA infeksiyonlarının genellikle uzun süredir hastanede yatan, daha önceden antibiyotik tedavisi almış hastalarda hastalığın seyri, komplikasyonları, morbidite ve mortalite yönünden önemli olduğunu vurgulamışlardır (20, 21, 25).

MRSA prevalansı hem coğrafi bölgeler arasında hem de aynı bölgede yer alan sağlık kuruluşları arasında değişkenlik gösterir. Amerika Birleşik

Devletleri'nde (ABD) stafilokoklarda metisilin direnci yıllar içinde yavaş bir artış göstermiştir. *S. aureus* suşlarında 1970'li yılların ortalarında %3-5 olan metisilin direnci oranı 1990'lı yıllarda %18'e çıkmıştır (1). Centers for Disease Control and Prevention (CDC) tarafından koordine edilen National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS) çalışmasında 1970'li yılların başından itibaren ABD'deki tüm hastanelerden epidemiyolojik veriler toplanmış ve nozokomiyal infeksiyon etkenlerinin dağılımı araştırılmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre 1986-89 yılları arasındaki dönemde en sık karşılaşılan nozokomiyal infeksiyon etkeni *Escherichia coli* (%16) olmuştur (1, 4). *E. coli*'yi sırasıyla enterokoklar, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* izlemektedir (%9-12). *S. aureus* nozokomiyal yara infeksiyonlarında en sık saptanan etkidir. Bunu enterokoklar ve koagülaz negatif stafilokoklar izlemektedir. Ayrıca *S. aureus* nozokomiyal pnömoni ve bakteriyemi etkenleri arasında 2. sırada yer almaktadır. Nozokomiyal infeksiyon etkenleri arasında koagülaz negatif stafilokoklar, enterokoklar ve kandida türlerinin önemi her geçen yıl giderek artmaktadır. NNIS verilerine göre 1975-1991 arasında test edilen *S. aureus* suşlarının %11'i metisiline dirençlidir ve bu süre içinde metisilin direncinde 10 kattan fazla artış olmuştur (1974'de %2.4 iken 1991'de %29) (1, 17). MRSA oranındaki en belirgin artış büyük hastanelerde (>500 yatak) gözlenmiştir. 1991 verilerine göre küçük hastanelerde (<200 yatak) *S. aureus* suşlarında metisilin direnci oranı %14.9, orta büyüklükteki hastanelerde (200-499 yatak) %20.3, büyük hastanelerde ise %38.3'dür. İngiltere, Belçika ve diğer Avrupa ülkelerinden bildirilen sonuçlar da benzer niteliktedir (1, 4, 17).

European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC), Avrupa'da yoğun bakım ünitelerinde izlenen hastalardaki infeksiyon prevalansını saptamak amacıyla planlanmış olan bir çalışmadır. Bu çalışmada 30 Nisan 1992'de çok sayıda Avrupa ülkesinde yoğun bakım ünitelerinde (toplam 1472 yoğun bakım ünitesi) yatmakta olan 10.000'den fazla hasta infeksiyon yönünden araştırılmıştır (1). Belirlenen günde taranan hastalarda infeksiyon olup olmadığını ve saptanan infeksiyonların ne kadarının yoğun bakımda kazanıldığını araştırmayı amaçlayan

bu çalışmada tüm yoğun bakım hastalarının %45'inde infeksiyon olduğu ve bunların %21'ini yoğun bakım ünitesinde kazanılmış infeksiyonların oluşturduğu saptanmıştır. Ayrıca tüm infeksiyonların 1/3'ünde etkenin *S. aureus* olduğu bulunmuştur (*Enterobacteriaceae* %40, *Pseudomonas aeruginosa* %29, *Enterococci* %12, koagülaz negatif stafilokoklar %19). Dikkati çeken diğer bir nokta ise Avrupa genelinde tüm *S. aureus* infeksiyonlarının %60'ının MRSA suşlarına bağlı olması, ancak ülkeler arasında bu oran yönünden önemli farklılıklar gözlenmesidir (Tablo2) (1).

Tablo 2: Avrupa'nın değişik ülkelerinde nozokomiyal infeksiyon etkeni olan *S. aureus* suşlarında metisilin direnç oranları (1).

| Ülke | MRSA (%) |
|-----------|----------|
| İtalya | 34,4 |
| Fransa | 33,6 |
| İspanya | 30,3 |
| Belçika | 25,1 |
| Avusturya | 21,6 |
| Almanya | 5,5 |
| İsviçre | 1,8 |
| Hollanda | 1,5 |
| İsveç | 0,3 |
| Danimarka | 0,1 |

Avrupa'da tüm hastane infeksiyonlarına yönelik bir başka prevalans çalışmasında (Tablo 3), 10 farklı ülkeden (toplam 43 laboratuvardan) gönderilen birbirini izleyen ilk 200 *S. aureus* izolatu incelenmiş ve toplam 7333 izolatin %12.8'inin metisilin dirençli olduğu, MRSA suşlarının 1/3'ünün cerrahi servislerden, 1/3'ünün ise yoğun bakım ünitelerinden izole edildiği bildirilmiştir (1). Bu çalışmada İtalya, Fransa, İspanya, Belçika ve Avusturya'da MRSA

oranının yüksek, Almanya'da orta düzeyde, Danimarka, İsveç, Hollanda ve İsviçre'de çok düşük olduğu saptanmıştır.

Tablo 3: Avrupa'nın değişik ülkelerindeki hastanelerin yoğun bakım ünitelerinde MRSA dağılımı (1).

| Ülke | <i>S. aureus</i> sayısı | MRSA (%) |
|-----------|-------------------------|----------|
| Avusturya | 102 | 52.9 |
| Hollanda | 34 | 52.9 |
| Fransa | 229 | 46.3 |
| İspanya | 181 | 39.2 |
| Belçika | 80 | 27.5 |
| Almanya | 98 | 23.5 |
| İsviçre | 88 | 2.3 |
| Hollanda | 101 | 0 |

Yoğun bakım ünitelerinde gelişen infeksiyonlar tek başına incelendiğinde MRSA oranlarının daha da arttığı ve Avrupa genelinde MRSA suşları arasında diğer antibiyotiklere (siprofloksasin, klindamisin, eritromisin, trimetoprim-sulfametoksazol, rifampisin) direnç oranının da yüksek olduğu gözlenmiştir (1, 4, 15, 18).

MRSA ile kolonizasyon ve infeksiyon için en önemli risk faktörleri yaş, altta yatan hastalıklar, nazal kolonizasyon ve yabancı cisimlerdir (kateter, trakeostomi, nazogastrik tüp) . MRSA ile infekte olan hastaların çoğunda yatış süreleri uzun, antibiyotik kullanımı fazladır (3, 4, 17, 26). Nozokomiyal MRSA infeksiyonlarının ve MRSA epidemilerinin yaklaşık 2/3'ü yoğun bakım ünitelerinde görülmektedir (27).

MRSA'nın bir hastaneye girişini takiben eradikasyonu oldukça güçtür. Hastanelerde ve bakımevlerinde başlıca MRSA rezervuarını bu mikroorganizma

ile kolonize ya da infekte olan hastalar oluşturur (25-28). Bilinen en önemli yayılım mekanizması hastane personelinin ellerinde geçici süreyle MRSA taşınmasıdır (28). Çevresel MRSA kontaminasyonunun yoğun olduğu servislerde (yanık üniteleri, MRSA ile kolonize veya infekte eksfoliatif dermatitli hastaların bulunduğu servisler gibi) yatan hastalarda MRSA infeksiyonu ya da kolonizasyonu riski daha fazladır (29). MRSA ile kolonize veya infekte olan ve sekresyonlarını kontrol edemeyen trakeostomili hastaların bulunduğu ortamlarda hava yoluyla yayılım mümkündür (26-29). Ayrıca MRSA ile kolonize sağlık personelinin kaynaklanan epidemiler de bildirilmiştir (27). Ancak belirtilen bulaşma yollarından hiçbirisi (çevresel kontaminasyon, hava yoluyla yayılım, kolonize sağlık personeli) sağlık personelinin ellerinde geçici olarak MRSA taşınması kadar önemli değildir (30, 31).

Nazal *S. aureus* taşıyıcılığının prevalansı çalışılan popülasyona göre değişkenlik gösterir; yaş, ırk, antibiyotik kullanımı, hospitalizasyon gibi birçok faktör tarafından etkilenir (29, 30). Yenidoğanda %90'a varan nazal taşıyıcılık oranı ilk 2 yıl içinde %20'ye iner, 4-6 yaşından itibaren de erişkin oranına ulaşır. Erişkinlerde nazal *S. aureus* taşıyıcılığı için %10-50 arasında değişen rakamlar bildirilmektedir (1, 30, 31). Üç tip nazal taşıyıcı bulunmaktadır:

- Devamlı nazal *S. aureus* taşıyıcıları (%10-20)
- Aralıklı nazal *S. aureus* taşıyıcıları (%10-20)
- Hiç taşımayanlar (bakteriyel interferans ya da konakçının genetik özellikleri nedeniyle)

Hastaneye yatışı takiben 5-10 gün içinde hastaların %20-30'u o hastanede baskın olan suşu burunlarında taşımaya başlarlar. Antibiyotik kullanımı, hemodiyalize girme, diabetes mellitus, immün yetmezlik gibi durumlarda bu oran daha da artar (27).

Burada *S. aureus* kolonizasyonu oluşumunda ilk aşama bakterinin adherensidir. İn vitro koşullarda nazal *S. aureus* taşıyıcılarında mikroorganizmanın nazal epitel hücrelerine afinitesinin taşıyıcı olmayanlara oranla daha fazla olduğu gösterilmiştir (15). Fibronektine ve lektinlere bağlanma,

HLA tipleri, bakteri inokulumunun büyüklüğü, teikoik asit ve burunun kalıcı floradaki bakterilerle interferans nazal taşıyıcılığın belirlenmesinde rol oynadığı ileri sürülen diğer faktörlerdir (15).

2.5. Epidemik MRSA İnfeksiyonları ve Epidemiyolojik Çalışmalar

Epidemik nozokomiyal infeksiyonlar, bir hastanede ya da bir serviste belirli bir dönemde, olağan kabul edilen oranın üzerinde infeksiyon görülmesini ifade eder. İlk nozokomiyal MRSA epidemisinin 1963 yılında tanımlanmasını takiben Avrupa ve Amerika'dan çok sayıda MRSA epidemisi bildirilmiştir (1, 27). İngiltere'de 1980'li yılların başında tek bir MRSA suşunun çok sayıda hastanede epidemilere neden olduğu saptanmış ve bu suşa epidemik MRSA-1 (EMRSA-1) adı verilmiştir (32). O tarihten bu yana epidemilere neden olduğu bildirilen çok sayıda MRSA suşu tanımlanmıştır (1, 15, 26, 32, 33, 34).

MRSA suşlarına epidemik özellik kazandıran belirleyiciler henüz tam olarak bilinmemektedir. EMRSA suşlarının kuru ortamlarda sporadik MRSA (SMRSA) suşlarına oranla daha uzun süre canlı kaldığı gösterilmiştir (35). Kollajene ve fibronektine bağlanma konak dokulara kolonizasyon ve invazyonu önem taşıyan virulans faktörleridir. Ancak EMRSA ve SMRSA suşları arasında bu faktörler yönünden anlamlı bir fark saptanmamıştır (35). *S. aureus* suşlarının yaklaşık %90'ında polisakkarit yapısında bir kapsül bulunur (10). Kapsül yapısına göre 11 farklı serotip tanımlanmıştır (36). Bu 11 serotipin dağılımı yönünden EMRSA ve SMRSA suşları arasında önemli bir fark gözlenmemiştir. Ancak EMRSA suşları arasında daha fazla sayıda kapsüller serotipi belirlenemeyen suş bulunması dikkat çekicidir. Bunun epidemik davranış paterni yönünden önem taşıyıp taşımadığı bilinmemektedir. Yirmidört EMRSA ve 16 SMRSA suşunun karşılaştırıldığı bir çalışmada daha fazla sayıda EMRSA suşunun (EMRSA'da %79, SMRSA'da %44) α -toksin ürettiği ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir. Bu farklılıkların suşların epidemik davranış paternini ne ölçüde etkilediği henüz açıklık kazanmamıştır.

Ayrıca epidemik olduğu bilinen suşların (örneğin EMRSA-1) her zaman yayılım göstermediğini bildiren yayınlar vardır (1, 35). Bu nedenle EMRSA suşlarının davranış paterninin mikroorganizma, hasta ve çevresel faktörler arasındaki ilişkiye bağlı olduğu sanılmaktadır.

Epidemik nozokomiyal bir patojen haline geldikten sonra MRSA'nın eradikasyonunun çok güç olması ve epidemilerin getirdiği mali yük nedeniyle son yıllarda MRSA infeksiyonlarının epidemiyolojik incelemesi üzerinde önemle durulmaktadır (18).

MRSA infeksiyonlarının epidemiyolojik incelemesinin yapılabilmesi için suşları birbirinden ayırdedebilecek ya da aralarındaki benzerliği kanıtlayabilecek yöntemler kullanılması gereklidir. Ancak MRSA suşları arasındaki yakın genetik benzerlik nedeniyle bu tür bir değerlendirmenin rutin bakteriyolojik yöntemlerle yapılabilmesi mümkün değildir (37,38). Henüz MRSA suşları için kesin bir tiplendirme sistemi tanımlanmamıştır. Günümüzde nozokomiyal epidemilerin analizinde kullanılan tiplendirme yöntemleri MRSA suşları arasındaki fenotipik (antibiyotik duyarlılığı, bakteriyofaj tiplendirmesi, kapsül tiplendirmesi, multilokus enzim elektroforez, protein elektroforez/immunoblotting vb.) veya genotipik (plazmid fingerprinting, Southern-blotting, arbitrarily primed-polymerase chain reaction, pulsed field gel electrophoresis vb.) farklılıkları esas almaktadır (7).

MRSA suşlarının epidemiyolojik incelemesinde altın standart olarak kabul edilen test faj tiplendirmesidir (7). Ayrıca PFGE (pulsed field gel electrophoresis) bu konuda hızla önem kazanmaktadır. Uluslararası Faj Tiplendirme Şeması (International Phage Typing Scheme) kullanılarak tüm MRSA suşlarının ancak %60'ı tiplendirilebilir (39). Farklı bakteriyofajlar eklenerek bu oran arttırılabilir. (7, 39). Öte yandan faj tiplendirmesiyle aynı olduğu saptanan bazı suşların moleküler yöntemlerle farklı genotiplere sahip oldukları gösterilmiştir. Özellikle birbirine benzer faj paternine sahip olan ancak tam korrelasyon göstermeyen suşlarla karşılaşıldığında sonuçların yorumlanması güç olmaktadır (7).

MRSA suşlarında genellikle çoklu antiyotik direnci gözlenmesi nedeniyle epidemiyolojik bir incelemenin yalnızca antibiyotik duyarlılık testlerine bakılarak yapılması da mümkün değildir (18, 40). Ancak bir hastanede (veya serviste) birkaç hafta ya da ay içinde belirli bir direnç paternine sahip MRSA izolatlarının sayısında artış saptanması bir epideminin habercisi olabilir. Bu nedenle her hastanede nozokomiyal infeksiyon etkenlerinin ve antibiyotik direnç paternlerinin dikkatle izlenmesi gerekmektedir (40).

Direnç belirleyici genetik özellikler genellikle mutasyonlar yoluyla veya plazmidler aracılığıyla kazanılır. Plazmidlerin kaybedilmesi ya da yeniden düzenlenmesi (rearrangement) sonucunda birbiriyle çok yakından ilişkili olan suşların bile antibiyotik duyarlılık paternleri farklı olabilir (41). Genotipik yöntemler nozokomiyal patojenlerin suşları arasındaki farklılıkları göstermede fenotipik yöntemlerden daha üstündür. Örneğin plazmid DNA'sının restriksiyon enzimlerle kesimler (restriction endonuclease analysis of plasmid DNA) (REAP) hastane epidemilerinde mikroorganizmaların klonal dağılımının incelenmesine yararlı olduğu gösterilmiş bir yöntemdir (37). Plazmidlerin sık genetik "rearrangement" geçirmeleri nedeniyle DNA bant paternlerinin analizi de güç olabilir (37). Bazı nozokomiyal patojenlerin az sayıda plazmid taşıması ya da hiç plazmid taşıması bu tür mikroorganizmaların REAP yöntemiyle tiplendirilmesinde güçlük yaratmaktadır (37, 41). Plazmid analizindeki sorunlar nedeniyle tiplendirme için kromozomal DNA analizine dayalı yöntemlerin geliştirilmesine ağırlık verilmiştir. PFGE kromozomal DNA'nın endonükleazlarla belirli noktalardan kesilmesiyle elde edilen farklı büyüklüklerdeki parçaların (makrorestriksiyon fragmanları) görüntülenmesi için kullanılan yöntemlerden olup son yıllarda MRSA suşlarının epidemiyolojik incelemesinde en fazla tercih edilen yöntemlerden biri haline gelmiştir (7). Diğer bir genotipik yöntem olan Arbitrarily primed-polymerase chain reaction (AP-PCR) ile kompleks genomik DNA'dan elde edilen karakteristik bant paternlerinin analizi yapılabilir (7, 38). AP-PCR'da, rutin PCR'dan farklı olarak rastgele seçilmiş primerlerin, amplifikasyonun başlangıç döngülerinde hedef

DNA'ya düşük sıcaklıkta, özgül olmayan bir şekilde bağlanmalarının sağlanması amaçlanmaktadır. Daha sonraki döngülerde ise primerlerin bağlanma derecesi yüksek tutularak özgül bağlanma gerçekleşmekte ve ilk döngülerde oluşan ürünler amplifiye edilmektedir. AP-PCR ile elde edilen DNA bant paternleri her suş için özgüldür (38). Her suş için elde edilen bantların sayısını, yoğunluğunu ve bant paternlerinin tekrarlanılabilirliğini etkileyen faktörler şunlardır: primer dizisi ve uzunluğu, deney koşulları (özellikle birleşme derecesi), DNA (kalıp ve primer) ve tuz konsantrasyonu, DNA ekstraksiyon ve arıtma yöntemleri, her amplifikasyonda kullanılan "thermal cycler"ın aynı olması. Bu faktörlerin sabit tutulması sonuçların sağlıklı ve tekrarlanılabilir olması açısından büyük önem taşır. Suşlar arasındaki genetik ilişki azaldıkça bant paternlerinin polimorfizmi de artmaktadır. AP-PCR'ın PFGE veya faj tiplendirmesi ile aynı rezolüsyona ulaşabilmesi için en az 3 farklı primer kullanılması önerilmektedir (7). Basit ve hızlı bir yöntem olması nedeniyle, uygun koşullar altında uygulanması şartıyla AP-PCR'ın MRSA suşlarının epidemiyolojik incelemesinde ilk tercih edilecek yöntem olabileceği ileri sürülmektedir (41, 42, 43).

2.6. Sürveyans Çalışmaları

MRSA taşıyan hastaları saptamaya yönelik sürveyans metodları ile ilgili en önemli çalışmalardan biri 1982'de Thompson ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (1). Bu çalışmada MRSA infeksiyonlarını saptamak ve kontrol altına almak amacıyla 3 değişik sürveyans yöntemi uygulanmıştır:

1.Klinik laboratuvar sürveyansı

2.Yüksek riskli hastaların aylık prospektif mikrobiyolojik sürveyansı

3.Daha önceye ait MRSA infeksiyonu ya da kolonizasyonu olan hastaların saptanması ve bu hastalar yeniden hastaneye yattığında kültür sonuçları belli olana kadar izolasyonları

Bu üç yaklaşımın her biriyle MRSA olgularının yaklaşık 1/3'ünü saptamak mümkün olmuştur. Sürveyans çalışmaları ve kontrol önlemlerinin

kombine edilmesiyle MRSA infeksiyonlarının insidans ve prevalansında belirgin bir azalma sağlanabileceği saptanmıştır (28).

MRSA epidemisi belirli bir ünite MRSA kolonizasyonu ve/veya infeksiyonu oranında belirgin bir artış olması şeklinde tanımlanır. MRSA infeksiyonlarının epidemiyolojik incelemesinin yapılabilmesi için ilk üremenin saptandığı tarih, kültürün alındığı yer, hastanın o sırada hangi serviste (oda numarası dahil) yattığı, hangi servisler ya da hastaneler arasında ne zaman transfer yapıldığı, diğer infekte veya kolonize hastalarla ilişkisi olup olmadığı, mikroorganizmanın diğer antibiyotiklere duyarlılığı, hastayla ilgilenen doktor ve hemşire ekibi ile ilgili ayrıntılı bilgiye ihtiyaç vardır (1, 28).

2.7. MRSA İnfeksiyonlarının Kontrolü

Nozokomiyal patojenler arasındaki öneminin giderek artması, epidemilere neden olabilmesi ve tedavi seçeneklerinin kısıtlı olması nedeniyle MRSA infeksiyonlarının epidemiyolojisi ayrıntılı olarak incelenmiş, risk faktörleri araştırılmış ve epidemilerin kontrol altına alınabilmesi ya da önlenmesi için çeşitli stratejiler belirlenmiştir (26).

MRSA infeksiyonlarını kontrol altında tutmak amacıyla alınacak önlemler her sağlık kuruluşunun kaynaklarına, hasta popülasyonuna ve o kuruluşteki MRSA prevalansına göre belirlenmelidir (1, 26, 44). Asıl hedef olan MRSA'nın eradikasyonunu sağlamak mümkün olmadığı için aşağıda özetlenen önlemlerle hastane içi ve hastaneler arası MRSA yayılımının minimuma indirilmesi ve epidemilerin ortaya çıkışının önlenmesi amaçlanmaktadır. MRSA'nın endemik nozokomiyal bir patojen olduğu yerlerde fazla iş yükü getirmeyen, rutin hastane prosedürlerini aksatmayan ve çok pahalı olmayan kontrol sistemlerinin geliştirilmesi gerekir. İlk izolasyon sırasında herhangi bir MRSA suşunun epidemik olup olmadığını söylemek mümkün değildir. İngiltere'de epidemik MRSA suşlarını belirlemek amacıyla kurulmuş stafilokok referans laboratuvarı

vardır. Saptanan her suşun bu laboratuvara gönderilmesiyle daha ileri tiplendirme yapılabilmekte ve epidemik özellikleri hakkında bilgi alınabilmektedir (1).

EMRSA suşlarına karşı önlem alınmamasının getireceği ekonomik yükün, infeksiyon kontrol önlemlerinin getirdiği yükten daha fazla olduğu konusunda görüş birliği vardır.

MRSA'nın endemik nozokomiyal bir patojen haline geldiği hastanelerde aşağıda açıklanan yöntemlere başvurarak sorunu kontrol altına almak mümkün değildir. Bu tür hastanelerde mikrobiyoloji laboratuvarından bildirilen sonuçların değerlendirilmesi sırasında herhangi bir serviste MRSA oranında belirgin bir artış (o zamana kadar bilinen oranların üzerinde) saptanması halinde o servise yönelik tarama çalışmaları yapılarak epideminin kaynağının araştırılması yoluna gidilmeli ve kaynağın ortadan kaldırılmasına çalışılmalıdır (1,44).

2.7.1. MRSA İle İnfekte Veya Kolonize Bir Hasta Saptandığında Yapılması Gerekenler (1):

- Bir serviste 2 hafta içinde 2 ya da daha fazla hastadan MRSA üremesi saptanması halinde bu hastaların klinik durumları uygunsa hemen taburcu edilmeli.
- MRSA ile infekte ya da kolonize olan ve taburcu edilemeyen hastaların izole edilmesi, bu hastalardan ve aynı serviste yatan diğer hastalardan, servis personelinin tarama kültürleri alınmalı (burun, boğaz, perine, yara, cilt lezyonları, balgam, sondalı ise idrar örneği).
- Cerrahi servisler ve yoğun bakım üniteleri gibi kritik noktalarda her MRSA üremesini takiben tüm hastaların ve personelin taranması önerilir, servise yeni hasta girişi durdurulmalı, gerekirse servis kapatılmalı.
- Epideminin olduğu serviste hijyenik önlemler artırılmalı (tüm personelin el dezenfeksiyonunda antiseptik deterjan ya da % 70'lik alkol kullanması, odaların fenolik deterjanlarla temizlenmesi) ve eğitime özel önem verilmelidir.

- Hasta veya hastanın yakın çevresi ile temas öncesinde ve sonrasında eller antiseptik bir deterjanla yıkanmalı ya da alkol uygulanmalı, kontamine giysiler ve çamaşırlar ile temas sırasında eldiven, hasta veya yakın çevresi ile temas sırasında ise önlük giyilmelidir. Bazı özel durumlar (balgam aspirasyonu, göğüs fizyoterapisi, ekfoliyatif cilt hastalıkları gibi) dışında maske takılmasına gerek yoktur.

2.7.2. Nazal MRSA Taşıyıcılığının Tedavisi

Nazal MRSA taşıyıcılığı için tedavi seçenekleri Tablo 4'de özetlenmiştir. Burun dışında kalan diğer bölgelerde eradikasyon sağlamak güçtür. Mikroorganizma topikal antibiyotiklere dirençli olabilir ve antiseptikler her zaman etkili değildir (45).

Tablo 4: Nazal MRSA Taşıyıcılığının Tedavisi

| Topikal tedavi |
|------------------------------|
| -Mupirosin (ilk seçenek) |
| -Basitrasin |
| Oral tedavi |
| -Trimetoprim-sulfametoksazol |
| -Siprofloksasin |
| -Minosiklin |
| -Novobiosin |
| -Rifampisin |
| Topikal + oral tedavi |

MRSA taşıyıcılarına tedavi verilmesinin başlıca iki amacı vardır: Herhangi bir sağlık kuruluşunda gelişen MRSA epidemisini kontrol altına almak, tekrarlayan MRSA enfeksiyonu gelişen taşıyıcılarda enfeksiyon gelişimini önlemek. Tedavi seçeneklerinin kısıtlı olması ve direnç gelişimi nedeniyle tedavi

edilmesi gereken MRSA taşıyıcılarının belirlenmesi büyük önem taşır. MRSA kolonizasyonunun endemik olduğu bir hastanede taşıyıcıları tedavi endikasyonu yoktur (40).

2.7.3. Ciddi MRSA infeksiyonlarının tedavisi

Ciddi MRSA infeksiyonlarının tedavisinde ilk seçenek vankomisindir. Teikoplanin aktivitesi vankomisine benzeyen yeni bir glikopeptiddir. Vankomisine oranla daha az toksiktir ve kullanımı daha kolaydır (günde tek doz, intramusküler). Ciddi MRSA infeksiyonlarının tedavisinde vankomisinin yerini alıp alamayacağı henüz açıklık kazanmamıştır (40, 45)

2.7.4. İnfeksiyon Kontrolünde Diğer Yaklaşımlar

Avrupa ülkelerinde EMRSA infeksiyonlarının kontrolü amacıyla genellikle yukarıda özetlenen standart yöntemler kullanılır. Her ülkede MRSA prevalansına göre bu yöntemlerde bazı değişiklikler yapılabilir (1).

ABD'nde EMRSA infeksiyonlarının kontrolü için önerilen standart bir sistem yoktur. MRSA ile infekte ya da kolonize hastalar için infeksiyon veya kolonizasyon bölgesine ve nozokomiyal yayılım ihtimaline göre mutlak izolasyon veya temas izolasyonu uygulanır. Temas izolasyonunda temel prensipler MRSA ile kolonize veya infekte olan hastaların ayrı odalarda izlenmesi, infekte materyalle temas sırasında eldiven giyilmesi, hastayla yakın temas gerektiren ya da sekresyonların sıçraması ihtimali bulunan durumlarda (bronkoskopi, yara irrigasyonu, trakeotomi bakımı gibi) maske takılmasıdır. Mutlak izolasyonda ise infekte veya kolonize hastaların ayrı odalarda izlenmesine ek olarak bu odalara giren herkesin eldiven, maske ve önlük kullanması gerekir. Yapılan çalışmalar temas izolasyonu yönteminin MRSA infeksiyonlarının kontrolünde mutlak izolasyon kadar etkili olduğunu göstermiştir (1, 7, 30, 40).

Deneysel olarak sağlık personelinin ellerine inoküle edilen MRSA'nın 3 saatten uzun bir süre yaşayabildiği, ellerin su ve sabunla yıkanmasıyla tamamen temizlenebildiği gösterilmiştir (3, 31, 45). Bu nedenle el yıkama ve yara bakımı ile ilgili diğer genel önlemlere uyulması, personele bu konuda eğitim verilmesi MRSA infeksiyonlarının yayılımının önlenmesinde büyük önem taşır. Her türlü yara (infekte ya da kolonize olup olmadığına bakılmaksızın) ile ilgilenirken alınması gereken önlemler şunlardır:

- Yara bakımı sırasında tek kullanımlık eldiven giyilmeli ve bir hastadan diğerine geğerken eldiven değiştirilmelidir. Aksi takdirde eldiven yalnızca mikroorganizmaların sağlık personeline geçişini önler. Ancak hastadan hastaya kolaylıkla taşınabilir. Yara bakımı tamamlanıp eldiven çıkarıldıktan sonra eller yıkanmalıdır.

- Akıntılı yaralarla temas sırasında veya giysilere yaradan sıvı sıçraması ihtimali olan durumlarda önlük giyilmelidir.

Pansuman için kullanılan malzemeler hastadan hastaya transfer edilmemeli, tek kullanımlık malzeme tercih edilmeli, bu mümkün değilse her hasta için ayrı bir malzeme seti kullanılmalı ve kullanım sonrasında sterilize edilmelidir (31, 40, 45).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışma Grubu

Bu çalışma Mayıs 2000 ile Şubat 2001 tarihleri arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ), Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

Tüm izolatlar K.T.Ü. Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi'nde yatan hastaların Mayıs 2000-Şubat 2001 tarihleri arasında, Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen hasta materyallerinden izole edildi.

3.1.2. Klinik Bakteri Suşları

MRSA suşu izole edilen hastalar, hazırlanan MRSA sorgulama formuna (EK-1) ayrıntılı olarak kaydedildi. Hastaların hastaneye yatış tarihi, materyalin gönderildiği tarih, hastaya uygulanan invaziv girişimler, kullanılan antibiyotikler ve kullanım süreleri forma kaydedildi.

Hastane infeksiyonuna sebep olduğu düşünülen MRSA izolatlarının izole edildiği tarih, izole edildiği materyal, materyalin gönderildiği hastane birimi, hastaneye yatış tarihi ve izolat kodu Tablo 5'de gösterilmiştir. İzole edilen suşlar, Trabzon *Staphylococcus aureus* İzolasyon sırası (TSA XX) şeklinde kodlandı.

Tablo 5: İzole Edilen MRSA Suslarının İzole Edildiği Materyal, İzolasyon Tarihi ve Servislere Göre Dağılımı

| Sıra No | İzolat Kodu | Laboratuvar Protokolü | Materyal Gönderen Birim | Hastaneye Yatış Tarihi | İzolasyon Tarihi | İzole Edilen Materyal |
|---------|-------------|-----------------------|-------------------------|------------------------|------------------|-----------------------|
| 1 | TSA051a | 116137 | CYBÜ | 17.05.00 | 26.6.00 | Trakeal Aspirat |
| 2 | TSA051c | 115934 | CYBÜ | 17.05.00 | 26.6.00 | Kan kültürü |
| 3 | TSA052a | 107836 | CYBÜ | 09.06.00 | 19.6.00 | Yara kültürü |
| 4 | TSA052b | 115943 | CYBÜ | 09.06.00 | 26.06.00 | Yara kültürü |
| 5 | TSA053 | 116139 | Dahiliye | 18.05.00 | 26.6.00 | Kan kültürü |
| 6 | TSA054 | 116207 | Ortopedi | 10.06.00 | 26.6.00 | Yara kültürü |
| 7 | TSA055 | 115921 | Dahiliye | 10.06.00 | 26.06.00 | Perikardial mayi |
| 8 | TSA056 | 119222 | Nöroloji | 18.05.00 | 03.07.00 | Trakeotomi |
| 9 | TSA057 | 119082 | Dahiliye | 26.06.00 | 03.07.00 | Yara kültürü |
| 10 | TSA058 | 115965 | Dahiliye | 14.06.00 | 27.06.00 | İdrar kültürü |
| 11 | TSA059 | 118502 | Beyin cerrahisi | 18.06.00 | 05.07.00 | BOS |
| 12 | TSA060 | 118524 | Beyin cerrahisi | 04.04.00 | 29.06.00 | Püy kültürü |
| 13 | TSA061 | 118527 | CYBÜ | 22.06.00 | 29.06.00 | Ameliyat materyali |
| 14 | TSA062 | 118713 | CYBÜ | 22.06.00 | 03.07.00 | Dren sıvısı |
| 15 | TSA063 | 118633 | CYBÜ | 09.05.00 | 29.06.00 | Trakeal aspirat |
| 16 | TSA064 | 116053 | Çocuk Cerrahisi | 16.06.00 | 27.06.00 | Ameliyat materyali |
| 17 | TSA065 | 118479 | Göğüs Hastalıkları | 19.06.00 | 28.06.00 | Kan kültürü |
| 18 | TSA066 | 115934 | CYBÜ | 17.05.00 | 26.06.00 | Kan kültürü |
| 19 | TSA070 | 148633 | CYBÜ | 13.08.00 | 17.08.00 | Trakeal aspirat |
| 20 | TSA071 | 124394 | Kadın-doğum | 14.07.00 | 25.07.00 | Yara kültürü |
| 21 | TSA072 | 134095 | CYBÜ | 21.07.00 | 28.07.00 | Kan kültürü |
| 22 | TSA073 | 148622 | CYBÜ | 11.08.00 | 17.08.00 | Trakeal aspirat |

Tablo 5'in Devamı:

| | | | | | | |
|----|---------|--------|-----------------|----------|----------|-----------------|
| 23 | TSA074 | 131142 | Dahiliye | 27.03.00 | 19.07.00 | Yara kültürü |
| 24 | TSA075 | 142037 | CYBÜ | 27.06.00 | 31.07.00 | Kan kültürü |
| 25 | TSA076 | 141804 | CYBÜ | 14.07.00 | 02.08.00 | Trakeal aspirat |
| 26 | TSA078 | 149134 | CYBÜ | 30.07.00 | 18.08.00 | Püy kültürü |
| 27 | TSA079 | 164896 | Ortopedi | 19.08.00 | 08.09.00 | Dren sıvısı |
| 28 | TSA081 | 148564 | CYBÜ | 04.08.00 | 09.08.00 | Trakeal aspirat |
| 29 | TSA082 | 149082 | Dahiliye | 31.07.00 | 17.08.00 | Kan kültürü |
| 30 | TSA083a | 168436 | Dahiliye | 11.08.00 | 08.09.00 | Yara kültürü |
| 31 | TSA083b | 164950 | Dahiliye | 11.08.00 | 08.09.00 | Kan kültürü |
| 32 | TSA085 | 149285 | Dahiliye | 14.07.00 | 02.08.00 | Yara kültürü |
| 33 | TSA086 | 155725 | Çocuk Cerrahisi | 07.08.00 | 10.09.00 | İdrar kültürü |
| 34 | TSA087 | 148273 | CYBÜ | 18.07.00 | 02.08.00 | Kan kültürü |
| 35 | TSA088a | 217263 | Dahiliye | 08.11.00 | 14.11.00 | Püy kültürü |
| 36 | TSA088b | 217122 | Dahiliye | 08.11.00 | 17.11.00 | Dren kültürü |
| 37 | TSA089a | 221847 | CYBÜ | 08.11.00 | 17.11.00 | Kan kültürü |
| 38 | TSA089b | 217066 | CYBÜ | 08.11.00 | 20.11.00 | Trakeal aspirat |
| 39 | TSA089c | 221788 | CYBÜ | 08.11.00 | 22.11.00 | Dren kültürü |
| 40 | TSA089d | 221896 | CYBÜ | 08.11.00 | 24.11.00 | Trakeotomi |
| 41 | TSA089e | 221972 | CYBÜ | 08.11.00 | 18.11.00 | Kan kültürü |
| 42 | TSA089f | 217052 | CYBÜ | 08.11.00 | 15.12.00 | Kan kültürü |
| 43 | TSA089g | 221630 | CYBÜ | 08.11.00 | 21.11.00 | Kan kültürü |
| 44 | TSA089h | 221916 | CYBÜ | 08.11.00 | 20.11.00 | Kan kültürü |
| 45 | TSA089i | 250804 | CYBÜ | 08.11.00 | 16.12.00 | Kan kültürü |
| 46 | TSA090a | 222454 | CYBÜ | 06.11.00 | 16.11.00 | Trakeotomi |

Tablo 5'in Devamı:

| | | | | | | |
|----|---------|--------|-----------------|----------|----------|--------------------|
| 47 | TSA090b | 221789 | CYBÜ | 06.11.00 | 20.11.00 | Trakeal aspirat |
| 48 | TSA091 | 221758 | CYBÜ | 10.11.00 | 20.11.00 | Yara kültürü |
| 49 | TSA092 | 221800 | Çocuk Cerrahisi | 10.11.00 | 20.11.00 | Yara kültürü |
| 50 | TSA093 | 221904 | CYBÜ | 13.11.00 | 20.11.00 | Kanül kültürü |
| 51 | TSA094a | 223882 | CYBÜ | 15.11.00 | 05.12.00 | Trakeal aspirat |
| 52 | TSA094b | 223812 | CYBÜ | 15.11.00 | 05.12.00 | Trakeal aspirat |
| 53 | TSA095 | 223223 | CYBÜ | 24.11.00 | 11.12.00 | Kan kültürü |
| 54 | TSA096a | 223132 | CYBÜ | 27.11.00 | 13.12.00 | Kan kültürü |
| 55 | TSA096b | 223108 | CYBÜ | 27.11.00 | 12.12.00 | İdrar kültürü |
| 56 | TSA096c | 223106 | CYBÜ | 27.11.00 | 12.12.00 | Trakeal aspirat |
| 57 | TSA096d | 223217 | CYBÜ | 27.11.00 | 11.12.00 | Trakeal aspirat |
| 58 | TSA096e | 222727 | CYBÜ | 27.11.00 | 14.12.00 | Kan kültürü |
| 59 | TSA096f | 222665 | CYBÜ | 27.11.00 | 14.12.00 | Trakeal aspirat |
| 60 | TSA097a | 223224 | CYBÜ | 09.11.00 | 11.12.00 | Kan kültürü |
| 61 | TSA097b | 221238 | CYBÜ | 09.11.00 | 27.11.00 | Kan kültürü |
| 62 | TSA097c | 222724 | CYBÜ | 09.11.00 | 14.12.00 | Kan kültürü |
| 63 | TSA097d | 222651 | CYBÜ | 09.11.00 | 14.12.00 | Trakeal aspirat |
| 64 | TSA097e | 258395 | CYBÜ | 09.11.00 | 05.02.01 | Kan kültürü |
| 65 | TSA097f | 254013 | CYBÜ | 09.11.00 | 07.02.01 | Ameliyat materyali |
| 66 | TSA098a | 222753 | CYBÜ | 29.11.00 | 14.12.00 | Dren kültürü |
| 67 | TSA098b | 250862 | CYBÜ | 29.11.00 | 18.12.00 | Kan kültürü |
| 68 | TSA099 | 222798 | Dahiliye | 23.11.00 | 13.12.00 | Kan kültürü |
| 69 | TSA100 | 222793 | CYBÜ | 21.11.00 | 13.12.00 | Püvy kültürü |
| 70 | TSA101a | 249565 | Ortopedi | 01.12.00 | 15.12.00 | Yara kültürü |

Tablo 5'in Devamı:

| | | | | | | |
|----|---------|--------|-----------------|----------|----------|--------------------|
| 71 | TSA101b | 250830 | Ortopedi | 01.12.00 | 18.12.00 | Yara kültürü |
| 72 | TSA103 | 118642 | Dahiliye | 18.05.00 | 29.06.00 | Yara kültürü |
| 73 | TSA131 | 254195 | GKDC | 01.02.01 | 05.02.01 | Ameliyat materyali |
| 74 | TSA134 | 253458 | Nöroloji | 01.02.01 | 08.02.01 | Yara kültürü |
| 75 | TSA137 | 253049 | Dahiliye | 22.01.01 | 09.02.01 | Püy kültürü |
| 76 | TSA140 | 253948 | CYBÜ | 29.01.01 | 06.02.01 | Balgam kültürü |
| 77 | TSA132 | 254280 | Beyin cerrahisi | 26.01.01 | 06.02.01 | Kan kültürü |
| 78 | TSA133 | 253875 | Ortopedi | 26.01.01 | 06.02.01 | Yara kültürü |
| 79 | TSA136 | 253553 | Ortopedi | 02.01.01 | 09.02.01 | Kan kültürü |
| 80 | TSA138 | 254089 | CYBÜ | 29.01.01 | 08.02.01 | Dren kültürü |
| 81 | TSA139 | 253435 | Dahiliye | 26.01.01 | 08.02.01 | Dren kültürü |
| 82 | TSA143 | 258666 | CYBÜ | 26.01.01 | 01.02.01 | Kan kültürü |
| 83 | TSA144 | 253079 | CYBÜ | 26.01.01 | 09.02.01 | Kanül kültürü |

TSA: Trabzon *Staphylococcus aureus*

CYBÜ: Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi

GKDC: Göğüs-Kalp-Damar Cerrahisi

3.1.3. Kullanılan Araç ve Gereçler

Çalışmada kullanılan gereçler farklı firmalardan temin edildi. Mikrosantrifüj Heraeus, çalkalayıcı benmari GFL, benmari, inkübatör Memmert, -35°C derin dondurucu Bosch, vorteks Janke&Kunkel, hassas terazi Sartorius (Almanya), otomatik pipetler Rainin, mini-column plasmid purification filters Promega, deiyonize su sağlayıcısı Barnstead, Eppendorf tüpleri, polaroid kamera filmleri Sigma, elektroforez tankı, jel küveti ve tarakları Owl, doğru akım üretici E-C Apparatus Corporation (ABD), ultraviyole transillüminatörü Vilber Lourmat (Fransa), polaroid kamera, manyetik karıştırıcı Stuart, buz makinesi Scotman, thermocycler Techne Genius (İngiltere), pH metre Hanna (Portekiz), mikrodalga fırın Beko, distile su cihazı Şimşek Labortechnik, Pastör fırını Nüve (Türkiye), otoklav Medexport (Rusya).

3.1.4. Kullanılan Kimyasallar ve Besiyerleri

3.1.4.1. Kimyasallar

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler değişik firmalardan sağlandı. Agar-agar, sodium chloride (NaCl), sodium hydroxide (NaOH), sodium dodecyl sulfate (SDS), methyl red, α -naphthol, glacial acetic acid, hydrochloric acid (HCl), potassium hydroxide (KOH), glycerol, bromphenol blue, magnesium chloride ($MgCl_2$), di-potassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4), sodium citrate, di-potassium mono hydrogen phosphate (K_2HPO_4), *p*-dimethylaminobenzaldehyde, di-sodium hydrogen phosphate (Na_2HPO_4), guanidine aminomethanomidine thiocyanate, trizma® hydrochloride (Tris-HCl), trizma® base (Tris base), isoamyl alcohol, potassium acetate, xylene cyanole, agarose, etidium bromide, isopropanol, RNase, diatomaceous earth, ethylenediaminetetra-acetic acid (EDTA), deoxynucleotide three phosphates (dNTP) set Sigma, molecular size marker (λ phage DNA digested with *HindIII*),

GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder, *Taq* DNA polymerase MBI Fermentas (ABD), Hi-Lo™ DNA Marker Minnesota Molecular, Mueller Hinton broth, antibiotic disks Oxoid, Bacto® peptone, oligonucleotide primers IDT (İngiltere), potassium dihydrogene phosphate (KH_2PO_4) firmalarından sağlandı.

3.1.4.2. Besiyerleri ve Ayıraçlar

Kanlı Besiyeri:

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda Blood Agar Base (Oxoid, England) distile su kullanılarak hazırlandı. Otoklavda 121°C 'de 1 atm basınçta steril edildi. Kırkbeş-elli dereceye soğutulduktan sonra %7 steril fibrinsiz insan kanı eklendi ve steril petri plaklarına döküldü.

Brain-Heart Infusion Broth:

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda Brain-Heart Infusion Broth (Oxoid, England) distile su kullanılarak hazırlandı ve otoklavlandı.

Mueller-Hinton Besiyeri:

Üretici firmanın tarifine göre hazırlanıp %4 NaCl eklenerek, steril cam petri plaklarına 4 mm kalınlığında döküldü (pH 7.2-7.4).

Hidrojen Peroksid Çözeltisi:

H_2O_2 'nin steril saf sudaki %3'lük çözeltisi hazırlandı ve koyu renkli şişelerde $+4^\circ\text{C}$ 'de saklandı.

Lizostafin Solüsyonu:

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda 10 gr lysostaphin (Sigma) 40 μl fosfat tamponu içerisinde çözüldü. Vidalı kapaklı tüplere veya küçük şişelere birer ml bölünerek -20°C 'de saklandı. Kullanma eriyiği 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ olacak şekilde fosfat tampon (pH: 7.4) ile hazırlanıp kullanıldı.

TE Tamponu:

10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA ve (pH 8.0) deiyonize su kullanılarak hazırlandı.

RNase Stok Solüsyonu

10 mg/ml RNase, 0.15 M NaCl, 10 mM Tris HCl (pH 7.5) içinde çözülüp filtreye steril edildi. DNase'ı inaktive etmek için 100°C'de kaynatıldı, 4°C'de saklandı.

3.1.5. Plazmid İzolasyonunda Kullanılan Solüsyonlar**Solüsyon I:**

50 mM glukoz, 25 mM Tris-HCl (pH 8.0), 10 mM EDTA (pH 8.0), olacak şekilde deiyonize su ile hazırlandı ve 121°C' de 1 atm basınçta 10 dk otoklavlandı. Daha sonra içerisine 0.4 mg/ml RNase eklenerek 4°C' de saklandı.

Solüsyon II:

0.2 N NaOH, % 1 SDS steril deiyonize su ile taze olarak hazırlandı.

Solüsyon III:

60 ml 5 M potassium acetate, 11.5 ml glacial acetic acid, 28.8 ml steril deiyonize su kullanılarak hazırlandı. Son hacimde potasyum iyonu 3 M, asetat iyonu 5 M oldu. Solüsyon oda sıcaklığında saklandı.

DNA Bağlama Matriksi ve Guanidin Solüsyonu:

250 mg/ml olacak şekilde steril deiyonize su ile 3 saat yıkanmış diatomaceous earth kullanılarak DNA bağlama matriksi hazırlandı. Bu matriksin 1.5 ml'si 4 M guanidine aminomethanomidine, 50 mM Tris-HCL (pH 7.0), 20 mM EDTA (pH 8.0) olacak şekilde hazırlanmış guanidin solüsyonuna karıştırıldı ve 4°C' de saklandı.

Proteinaz K Solüsyonu:

Proteinaz K 10 mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde TE (pH 8.0) içinde çözülerek hazırlandı. Eppendorf tüplere bölünerek -20°C'de saklandı.

3.1.6. DNA İzolasyonunda Kullanılan Solüsyonlar

Tris-HCl Solüsyonu

0.5 M Tris-HCl (pH 7.5) deiyonize su kullanılarak hazırlandı.

Proteinaz K Solüsyonu

Proteinaz K 100 µg/ml konsantrasyonda olacak şekilde TE (pH 7.5) içinde çözülerek hazırlandı.

3.1.7. Agaroz Jel Elektroforezi için Kullanılan Solüsyonlar

TAE Elektroforez Tamponu

50 X konsantre olarak hazırlandı. % 24.2 Tris base, % 5.71 glacial acetic acid, % 3.72 EDTA (pH 8.5) olacak şekilde deiyonize su kullanılarak hazırlandı. pH ayarı için NaOH peletleri kullanıldı.

Çalışma solüsyonu olarak konsantre olarak hazırlanan tampon, distile veya deiyonize su ile sulandırılarak 1 X solüsyon kullanıldı. Çalışma solüsyonunda 40 mM Tris-acetate, 2 mM EDTA iyonları sağlanmış oldu.

Etidium Bromide Solüsyonu

1000X stok solüsyon (0.5 mg/ml), 50mg etidium bromide, 100ml deiyonize su içine ilave edilerek hazırlandı. Işıktan muhafazalı olarak saklandı (çalışma solüsyonu 0.5µg/ml).

Yükleme tamponu (Loading tamponu)

% 20 glycerol, 1 mg/ml (w/v) bromphenol blue, 1 mg/ml (w/v) xylene cyanole deiyonize su ile hazırlandı.

Agaroz Jel

Moleküler çalışmalar için uygun saflıkta (Low EEO) agaroz konsantrasyonu %2 (w/v) olacak miktarda tartıldı. 1XTAE içinde mikrodalga fırında eritildi. 50°C'ye soğuduğunda 0.5 µg/ml (w/v) olacak şekilde ethidium bromide eklendi. Tarak yerleştirilmiş elektroforez kalıbına döküldü. Katlaşınca örnekler kuyucuklara uygun şekilde yüklenerek 60 volt doğru akımda yürütüldü.

3.2. Metot

3.2.1. Çalışma Planı

Hastanemizin çeşitli kliniklerinden laboratuvara gönderilen kültür örneklerinden izole edilen MRSA suşları çalışmaya alındı. Her örnek için uygulanan değerlendirme formu EK-1'de verilmiştir. Hastanın genel bilgileri, hastaneye yatış tarihi, yatış sebebi, kültür tarihi, kullanılan antibiyotikler ve uygulanan invaziv girişimler sorgulanarak forma işlendi. Nozokomiyal infeksiyon etkeni olmayan suşlar çalışmadan çıkarıldı.

3.2.2. Klinik Örneklerin Mikrobiyolojik Yönden İncelenmesi

3.2.2.1. Kültür ve İzolasyon

Laboratuvara ulaştırılan örnekler %5 insan kanı eklenmiş kanlı agar besiyerine ekim yapılarak, 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İzole edilen bakteriler gram boyası, katalaz ve tüpte koagülaz testleri yapıldı. Gram pozitif, kogülaz pozitif, katalaz pozitif suşlar *Staphylococcus aureus* olarak tanımlandı.

3.2.2.2. Koagülaz Testi

Test edilecek mikroorganizmanın kanlı agarda 24 saatte oluşturduğu bir koloni öze ile alındı. Fizyolojik tuzlu su ile 1:5 oranında sulandırılmış plazma içerisinde ezilerek süspanse edildi. Su banyosunda 37°C’de bırakılarak 1.2.4.8. ve 24. saatlerde pıhtının oluşması izlendi. Pıhtı oluşturan suşlar *Staphylococcus aureus* olarak tanımlandı. Deneyde pozitif kontrol olarak ATCC 25923 (*Staphylococcus aureus*) kullanıldı.

3.2.2.3. Katalaz Testi

Öze ile temiz bir lam üzerine birkaç koloni alındı üzerine %3’lük hidrojen peroksit (H_2O_2) damlatıldı. Köpürme şeklinde gaz çıkışının gözlenmesi katalaz pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.2.4. Antibiyotiklere İnvitro Duyarlılık Testi

Antimikrobiyal hassasiyet testleri NCCLS (46) kriterlerine uygun olarak standart disk difüzyon yöntemi ile yapıldı. Oksasilin (OX, 1µg), Vankomisin (VA, 30µg), gentamisin (CN, 10µg), amikasin (AK, 30µg), netilmisin (NET, 30 µg); tetrasiklin (T, 30µg); trimetoprim/sulfametoksazol (SXT, 1.25 /23.75 µg); kloramfenikol (C, 30 µg), penisilin (P, 10µg), ampisilin (AM, 10µg), eritromisin (E, 15µg), klindamisin (DA, 2µg), rifampisin (RF, 30µg), siprofloksasin (CIP, 5µg) diskleri (Oxoid) kullanıldı.

Logaritmik üreme fazına kadar BHIB’da üretilen stafilokoklar steril distile su veya steril serum fizyolojik kullanılarak 0.5 McFarland bulanıklığına (% 1.175 $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ çözeltisinden 0.5 ml ile %1 H_2SO_4 çözeltisinden 99.5 ml karıştırılarak hazırlandı) uyacak şekilde sulandırıldı. Bu bulanıklık düzeyinde yaklaşık olarak 1.5×10^8 bakteri/ml olduğu varsayıldı. Mueller Hinton agar ucu pamuklu steril bir eküvyon ile yaygın ekim yapıldı. Plaklar her defasında 60°

döndürülerek agar yüzeyinde ekim yapılmamış yer kalmayacak şekilde işlem iki kez daha yinelendi. Son basamakta eküvyon, plağın kenarlarında çepeçevre gezdirilerek inokülasyon işlemi tamamlandı. Ekim yapıldıktan sonra agar yüzeyi kurutuldu. Dört derece sıcaklıkta saklanmakta olan antibiyotik diskleri alınarak agar yüzeyine temas edecek şekilde ve disk aralarında en az 24 mm olacak şekilde yerleştirildi. Çapı 150 mm'lik plaklara en fazla 12 disk, 100 mm'lik plaklara en fazla 5 disk yerleştirildi. Disklerin yerleştirilmesinden 15 dak sonra plaklar kapakları alta gelecek şekilde 35°C' ye ayarlanmış etüve koyuldu. Kültürler 16-18 saat atmosferik ortamda inkübe edildikten sonra değerlendirildi.

Çıplak göz ile değerlendirilerek tam inhibisyonun gözleendiği alanın çapı (disk çapı dahil) bir cetvel yardımıyla ölçüldü. İnhibisyon sınırı çıplak gözle görülebilir türemenin bittiği çizgi olarak kabul edildi.

NCCLS kriterlerine uyularak kullanılan Mueller Hinton agar, antibiyotik diskleri ve yapılan deneyin geçerliliğini göstermek için kontrol bakteri suşu olarak *S.aureus* ATTC 25923 suşu kullanıldı.

3.2.3. Plazmid DNA İzolasyonu

Plazmid pürifikasyon işlemlerinde alkali lizis miniprep yöntemi (47) bazı modifikasyonlarla kullanıldı.

Beş ml taze BHIB sıvı besiyerine tek koloni bakteri ekildi ve 37°C' ye ayarlanmış çalkalayıcı inkübatörde 250 rpm'de bir gece enkübe edildi. Kültürün 3 ml'si steril Eppendorf tüplere transfer edilerek mikrosantrifüjde 13.000 rpm'de 3 dak çöktürüldü. Süpernatant kısmının tamamı pelete zarar verilmeden atıldı. Pelet 200 µl solüsyon I içinde vorteks yardımıyla yeniden çözüldü ve 15 µl lizostafin eklenerek 5-10 dk oda sıcaklığında bekletildi. Yarım saat 37°C'de inkübe edildi. Karışımın viskoz hale dönüşmesinin gözlenmesiyle lizisin gerçekleştiği sonucuna varıldı. Taze hazırlanmış solüsyon II'den 200 µl eklendi ve tüp dikkatli bir şekilde alt-üst edilerek bakterilerin lizis olması sağlandı. Lizis karışımı buz üzerinde 5-10 dk bekletildi. Lizis karışımı üzerinde buzda

soğutulmuş denatürasyon solüsyonu solüsyon III' ten 200 µl eklendi. Denatürasyonun oluşmasını hızlandırmak için tüp dikkatlice alt-üst edildi. Karışım mikrosantrifüjde 13.000 rpm'de 5 dk santrifüjlendi. Plazmidlerin bulunduğu süpernatant temiz bir Eppendorf tüpe otomatik mikro pipet yardımıyla transfer edildi. Üzerine süpernatantın iki kat hacminde 37°C'ye ısıtılmış guanidin solüsyonu eklendi. Guanidin solüsyonu içinde bulunan diatomaceous earth (diatom toprağı) kolaylıkla çökelebildiği için solüsyon kullanılmadan önce sert bir şekilde çalkalandı. Pozitif yüklü diatom toprağının negatif yüklü olan plazmid DNA'larını bağlaması için alt-üst edilerek oda sıcaklığında 15-20 dk bekletildi. Bir mini-column alınarak pistonu çıkarılmış ucu vidalı bir enjektöre vidalandı ve karışım daha sonra enjektörün haznesine otomatik mikro pipet yardımıyla transfer edildi. Enjektörün pistonu takılarak diatom toprağı/DNA kompleksini içeren guanidin karışımı mini-columndan dikkatlice ve yavaşça süzüldü. Enjektör mini-columndan ayrıldı ve pistonu çıkarılarak tekrar mini-columna vidalandı. Üzerinden iki kere 3 ml % 80 isopropanol geçirilerek filtre üzerindeki diatom toprağı/DNA kompleksi yıkandı. Tekrar enjektör columndan ayrıldı ve temiz bir Eppendorf tüp üzerine koyuldu. Column taşıyan tüp mikrosantrifüje yerleştirilip 13.000 rpm'de 30-45 sn çevrilerek columnda kalan isopropanol atıldı. Mini-column temiz bir Eppendorf tüpünün üzerine yerleştirildi ve DNA'ya 65°C'ye ısıtılmış deiyonize sudan 30-70 µl eklenerek 1 dakika santrifüj sonucu plasmid DNA Eppendorf tüplerine toplandı. Plazmid DNA agaroz jel elektroforezi ile analiz edildi.

3.2.4. Plazmid DNA'larının *Hind*III Restriksiyon Enzimi ile Kesilmesi

İzole edilen plazmid DNA'larının restriksiyon enzim analizi protokollerde tarif edilen yöntemler kullanılarak yapıldı (48).

*Hind*III endonükleaz enzimi (MBI Fermentas) restriksiyon analizlerinde üretici firmanın tariflerine göre kullanıldı. Toplam 30 µl hacimde 1-5 U/µg DNA olacak şekilde enzim kullanılarak kesim işlemi yapıldı. Reaksiyon karışımına 10

X restriksiyon endonükleaz tamponundan 1 X olacak şekilde (3 μ l) eklendi. Artan volüm DNase içermeyen steril deiyonize su ile tamamlandı. Reaksiyon karışımı 37°C' ye ayarlanmış etüvde 1-2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun başlangıcından 45 dk sonra kesimin gerçekleşip gerçekleşmediğini kontrol etmek için karışımın bir miktarı (örneğin; 10 μ l' si) temiz bir Eppendorf tüpe nakledildi ve reaksiyonu durdurmak için toplam hacmin % 20'si (2 μ l) kadar yükleme (loading) tamponu ilave edilerek 65°C' ye ayarlanmış benmaride 10 dk enzim inaktive edildi. İnaktivasyondan hemen sonra karışım % 0.6-0.8'lik agaroz jele yüklenerek elektroforez edildi. Reaksiyon karışımının artan kısmı ise bu işlemler boyunca 37°C' de inkübasyona devam etti. Agaroz jeldeki seperasyona bakılarak kesim işleminin gerçekleşip gerçekleşmediğine karar verildi. Kesim gerçekleşmişse etüvdeki diğer karışıma yukarıdaki inaktivasyon işlemi uygulandı ve karışım -20°C' de stoklandı. Kullanılacağı zaman tekrar 65°C' de 10 dk ısı inaktivasyonu yapıldı.

3.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi

Agaroz jel elektroforezi protokollerde tarif edilen yöntemler kullanılarak yapıldı (49).

Yöntemde kullanılan solüsyonlar 3.1.5'te gösterilmiştir. Plazmid DNA için TAE tamponu içinde % 0.6-0.8 yoğunluğunda, PCR ürünleri için % 2-3 yoğunluğunda agaroz jel kullanıldı. Plazmid DNA örneklerinden 5-10 μ l alınarak yükleme tamponu (loading buffer) ile karıştırıldıktan sonra 40-120 Volt doğru akımda elektroforez edildi. Jel 0.5 μ g/ml etidium bromür ile boyandıktan sonra ultraviyole transillüminatöründe plazmid DNA paternleri gözlemlendi ve polaroid kamera ile görüntülendi.

3.2.6. Plazmid DNA'larının Moleküler Büyüklüklerinin Hesaplanması

Plazmidlerin moleküler büyüklüklerinin hesaplanması için *HindIII* restriksiyon enzimi ile elde edilmiş fragmanları gösteren fotoğraf kullanıldı. Fotoğraf fotokopi ile 1:1 oranda büyütüldü. Jelin ilk kuyucuğunda yürütülen *HindIII* ile kesilmiş, Lambda faj DNA fragmanları (23.1 kb, 9.4 kb, 6.6 kb, 4.5 kb, 2.3 kb ve 2.0 kb) semi-logaritmik kağıda aktarılarak elde edilen referans eğri kullanıldı. Bunun için semi-logaritmik kağıdın aksis (x) ekseni bantların kuyucuktan uzaklığı (cm), ordinat (y) ekseni ise moleküler büyüklük (baz çifti=bp) olarak belirlendikten sonra plazmid DNA fragmanları kuyucuktan itibaren uzaklıkları ölçüldü ve semi-logaritmik kağıtta moleküler ağırlığına karşı gelen yer nokta olarak işaretlendi. Bütün fragman aynı şekilde semi-logaritmik kağıtta işaretlendikten sonra bulunan noktalar birleştirilerek referans eğri elde edildi. Bu aşamadan sonra moleküler büyüklüğü hesaplanacak plazmidlerin restriksiyon fragmanları cetvel ile ölçüldü ve referans eğri ile kesiştiği noktanın ordinat eksenindeki değeri o bandın moleküler ağırlığı olarak belirlendi. Plazmidin bütün fragmanları bu şekilde hesaplanarak kaydedildi. Bütün fragmanların büyüklükleri toplanarak plazmidin moleküler büyüklüğü hesaplandı.

3.2.7. Epidemik ve Nonepidemik Plazmidlerin Belirlenmesi ve Gruplandırılması

Şekil 2'de 35 klinik suşun plazmidleri gösterildi. Elde edilen plazmid DNA'ları *HindIII* enzimi ile kesildi. Buna göre plazmidlerin (Resim 4) moleküler büyüklükleri 0.8 kb ile 40 kb arasında bulundu. TSA 062, TSA 073, TSA 079, TSA 081, TSA 090a, TSA 093 ve TSA 144 suşlarında plazmid izole edilemedi. pTSA 062, pTSA 073pTSA 079, pTSA 081, pTSA 090a, pTSA 093 ve pTSA 144 plazmidleri *HindIII* enzimi ile kesilemedi ve çalışma dışı bırakıldı.

Molekül büyüklükleri hesaplanan 35 plazmid A, B, C, D, E olarak gruplandırıldı (Tablo). Restriksiyon enzim paternleri değerlendirilerek A, B, C, D ve E grupları kendi aralarında epidemik ve nonepidemik plazmidler olarak gruplandırıldı.

3.2.8. Arbitrarly Primed PCR

3.2.8.1. *S.aureus* Kromozomal DNA İzolasyonu

S.aureus kromozomal DNA izolasyonu esas olarak, Ünal tarafından tanımlanan (43) protokole uygun olarak yapıldı. Bakteri kültürlerinden alınan tek koloni 10 ml BHIB içerisinde, çalkalayıcı Benmari'de 37°C'de 1 gece inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 100 µl kültür, 12500 rpm'de 3 dakika santrifüj edilerek çöktürüldü ve iyice vortekslenerek üç kez TE tamponu ile yıkandı. Pelet 40 µl Tris HCl (0.1 M, pH 7.5) ve 10 µl lizostafin eklenerek çözüldü. Yirmi dakika 37°C'de inkübe edildi. Üzerine 100 µl Tris HCl ve 50µl Proteinaz K (100 µg/ml) eklenerek 20 dakika 37°C'de bekletildi. Örnekler 100°C'de 15 dakika kaynatıldı. Santrifüjde 13000 rpm'de 5 dakika çöktürülerek süpernatant ayrı bir tüpe alındı. Kullanılana kadar -80°C'de saklandı.

3.2.8.2. PCR Reaksiyonları

PCR reaksiyonu toplam 250µl volümdeki tüplerde gerçekleştirildi. Reaksiyon karışımı 1X reaksiyon buffer (500 mM KCl, 100 mM Trizma HCl, pH 9.0, %1 triton X-100), 0.2mM deoksiniükleotid tri fosfat (dNTP: dATP, dGTP, dTTP, dCTP), 2.5µM MgCl₂, 20 pikomol primer (ERIC 2), 1U Taq DNA polimeraz ve steril sudan oluşan buz üzerinde hazırlandı. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının arbitrarly primed PCR reaksiyonlarında ERIC2 primeri kullanıldı.

Buz üzerinde 250µl kapasiteli tüplere 90'ar µl bölüştürüldü ve 10 µl template eklendi.

3.2.8.3. AP-PCR Sonuçlarının Yorumlanması

Amplifikasyon sonucunda oluşan bant paternleri arasında bir fark yoksa ya da sadece bant yoğunluğu açısından fark varsa bu izolatlar 'epidemiolojik olarak ilişkili' şeklinde yorumlandı. Birbirine benzer gibi görünen izolatlar, reaksiyon koşulları değiştirilerek veya farklı primerlerle amplifikasyon denenerek birbirinden ayrıştırıldı (38).

4. BULGULAR

Bu çalışma KTÜ Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Haziran 2000-Şubat 2001 tarihleri arasında gerçekleştirildi.

4.1. MRSA İzole Edilen Hastaların Servislere Göre Dağılımı

Hastanemizde çeşitli servislerde nozokomiyal infeksiyon etkeni olarak MRSA tespit edilen hastalar çalışmaya alındı. Toplam 57 hastadan 83 MRSA suşu izole edildi. Hastaların servislere göre dağılımı belirlendi (Tablo 6).

Tablo 6: Hastaların Servislere Göre Dağılımı

| Servis | Hasta Sayısı |
|----------------------------|--------------|
| CYBÜ | 28 |
| Dahiliye | 12 |
| Ortopedi | 5 |
| Beyin Cerrahisi | 3 |
| Çocuk Cerrahisi | 3 |
| Göğüs Hastalıkları | 1 |
| Kadın-Doğum | 1 |
| Nöroloji | 2 |
| Kardiyoloji | 1 |
| Göğüs Kalp Damar Cerrahisi | 1 |
| Toplam | 57 |

4.2. MRSA Suşlarının İzole Edildikleri Örneklerle Göre Dağılımı

Nozokomiyal infeksiyon etkeni suşların izole edildikleri örneklerle göre dağılımı belirlendi. Nozokomiyal MRSA suşlarının en fazla kan, yara ve trakeal aspirat örneklerinden izole edildiği izlendi (Tablo 7).

Tablo 7: Suşların İzole Edildikleri Örneklerle Göre Dağılımı

| İzole edilen örnek | Suş sayısı |
|--------------------|------------|
| Kan | 27 |
| Yara | 15 |
| Trakeal Aspirat | 14 |
| Dren-Kanül | 8 |
| Trakeotomi | 5 |
| Püy | 5 |
| Ameliyat Materyali | 3 |
| İdrar | 3 |
| Balgam | 1 |
| BOS | 1 |
| Perikardiyal Mayii | 1 |
| Toplam | 83 |

4.3. Antibiyotik Hassasiyet Testlerinin Değerlendirilmesi

Suşların antibiyotik hassasiyet testleri yapıldı. Suşların hepsi penisiline dirençli bulunurken, eritromisine %69, klindamisine %76, rifampisine %80, siprofloksasine %66, kotrimaksazole %16 ve amikasine %46 oranında direnç saptandı. Bütün suşlar oksasiline dirençli bulunurken, vankomisin ve teikoplanine dirençli suşa rastlanmadı (Tablo 8).

Tablo 8: MRSA Suşlarının Antibiyotiklere Direnç Durumları

| Antibiyotik | Dirençli suş sayısı | % |
|--------------------|----------------------------|----------|
| Penisilin | 83 | 100 |
| Eritromisin | 58 | 69 |
| Rifampisin | 67 | 80 |
| Siprofloksasin | 55 | 66 |
| TMP-SMX* | 14 | 16 |
| Amikasin | 39 | 46 |
| Gentamisin | 61 | 73.4 |
| Klindamisin | 60 | 72 |
| Oksasilin | 83 | 100 |
| Vankomisin | 0 | 0 |
| Teicoplanin | 0 | 0 |

* Trimetoprim-sulfometaksazol

Çalışmamızın hedefi genotipik yöntemlerle epidemik suşları belirleyebilmektir. Saptanan nozokomiyal MRSA infeksiyonlarının yaklaşık yarısının (%49) CYBÜ'den izole edildiği görüldü. Bu nedenle, genotipik çalışmalar ekonomik şartlar da gözönüne alınarak MRSA'nın daha infeksiyöz olduğu Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi izolatları üzerinde gerçekleştirildi. CYBÜ'de 28 hastadan izole edilen 35 MRSA suşu ile çalışmalara devam edildi.

4.4. Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi Suşlarının Antibiyotik Hassasiyet Testleri

CYBÜ'den izole edilen 35 MRSA suşunun antibiyotik hassasiyet testleri ampisilin, gentamisin ve netilmisin antibiyotik diskleri eklenerek tekrarlandı. Tüm suşlar oksasiline dirençli bulundu. Diğer antibiyotiklere direnç oranları: penisilin %100, ampisilin %77, eritromisin %74, klindamisin ve rifampisin %82, gentamisin %97, amikasin %80, netilmisin %31, siprofloksasin %68 ve kotrimaksazol %31 olarak saptandı. Vankomisin ve teikoplanine dirençli suşa rastlanmadı (Tablo 9).

Tablo 9: CYBÜ'den İzole Edilen MRSA'ların Antibiyotik Hassasiyet Testleri

| SUŞ NO | AMP | DA | CIP | AMK | CN | NET | E | PE | RF | TMP- SXT | OX | TEİ | VA | TİP |
|---------|-----|----|-----|-----|----|-----|---|----|----|-------------|----|-----|----|-----|
| TSA051a | R | R | R | S | R | S | S | R | R | S | R | S | S | 4 |
| TSA051c | R | R | S | R | R | S | R | R | R | R | R | S | S | 9 |
| TSA052 | R | R | R | R | R | S | R | R | R | S | R | S | S | 3 |
| TSA061 | R | R | R | R | R | S | R | R | R | S | R | S | S | 3 |
| TSA063 | R | S | R | R | R | S | S | R | R | S | R | S | S | 5 |
| TSA062 | R | S | S | S | R | S | S | R | R | S | R | S | S | 6 |
| TSA066 | R | R | S | R | R | S | R | R | R | R | R | S | S | 9 |
| TSA072 | R | R | R | R | R | S | R | R | R | S | R | S | S | 3 |
| TSA075 | R | S | S | R | S | S | S | R | S | S | R | S | S | 7 |
| TSA070 | R | S | R | S | R | S | R | R | S | S | R | S | S | 10 |
| TSA073 | R | R | R | R | R | S | R | R | R | S | R | S | S | 3 |
| TSA076 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | S | 1 |

| | | | | | | | | | | | | | | |
|---------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| TSA079 | R | R | R | S | R | S | S | R | R | S | R | S | S | 4 |
| TSA081 | S | S | R | R | R | S | R | R | S | S | R | S | S | 8 |
| TSA087 | R | S | S | R | R | S | S | R | S | S | R | S | S | 7 |
| TSA089a | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S | S | 2 |
| TSA089d | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S | S | 2 |
| TSA089f | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | S | 1 |
| TSA090a | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | S | 1 |
| TSA091 | R | R | S | R | R | R | R | R | R | S | R | S | S | 2 |
| TSA093 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | S | 1 |
| TSA094a | R | R | R | S | R | S | S | R | R | S | R | S | S | 4 |
| TSA095 | R | R | R | R | R | S | R | R | R | S | R | S | S | 3 |
| TSA096a | R | R | S | R | R | S | R | R | R | R | R | S | S | 9 |
| TSA096c | R | R | R | R | R | S | R | R | R | S | R | S | S | 3 |
| TSA096e | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | S | 1 |
| TSA097a | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | S | 1 |
| TSA097d | R | R | R | R | R | S | R | R | R | S | R | S | S | 3 |
| TSA097f | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S | S | 2 |
| TSA098a | R | R | S | R | R | S | R | R | R | R | R | S | S | 9 |

| | | | | | | | | | | | | | | |
|--------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|
| TSA100 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | S | 1 |
| TSA138 | R | R | R | R | R | S | R | R | R | S | R | S | S | 3 |
| TSA140 | R | S | S | S | R | S | S | R | R | S | R | S | S | 11 |
| TSA143 | R | S | S | R | R | S | S | R | S | S | R | S | S | 7 |
| TSA144 | R | S | S | S | R | S | R | R | S | S | R | S | S | 11 |

R: Dirençli, S: Hassas

AMP: Ampisilin, DA: Klindamisin, CIP: Siprofloksasin, CN: Gentamisin, NET: Netilmisin, E: Eritromisin, PE: Penisilin, RF: Rifampisin, TMP-SXT: Trimetoprim-sulfometaksazol, OX: Oksasilin, TEI: Teikoplanin, VA: Vankomisin.

4.5. CYBÜ'den İzole Edilen Suşların Antibiyotik Hassasiyet Testlerine Göre Sınıflandırılması

Antibiyotik hassasiyet testlerine göre antibiyotiklere aynı direnç profilini gösteren suşlar aynı tip adı altında sınıflandırıldı (Tablo 10).

Tablo 10: Suşların Antibiyotik Hassasiyetlerine Göre Tiplendirilmesi

| Tip Adı | Suş Sayısı |
|---------|------------|
| Tip 1 | 7 |
| Tip 2 | 4 |
| Tip 3 | 8 |
| Tip 4 | 3 |
| Tip 5 | 1 |
| Tip 6 | 1 |
| Tip 7 | 3 |
| Tip 8 | 1 |
| Tip 9 | 4 |
| Tip 10 | 1 |
| Tip 11 | 2 |

Tablo 11: CYBÜ ve Diğer Servislerden İzole Edilen MRSA Suşlarının Antibiyotik Hassasiyet Testlerinin Karşılaştırması

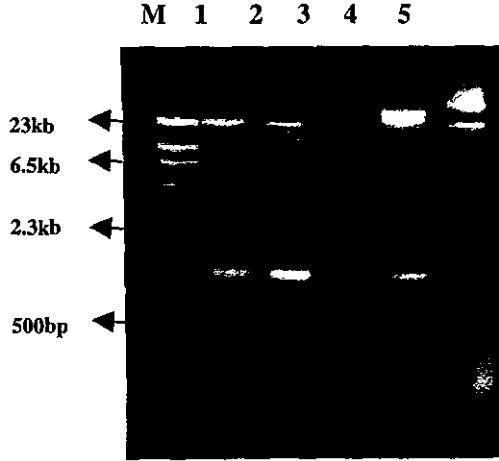
| Antibiyotik | CYBÜ MRSA (n=35) | | Diğer Servislerden İzole Edilen MRSA (n=48) | |
|----------------|---------------------|-----|--|------|
| | Direnç | % | Direnç | % |
| Penisilin | 35 | 100 | 48 | 100 |
| Ampisilin | 27 | 77 | - | - |
| Eritromisin | 26 | 74 | 26 | 54 |
| Klindamisin | 26 | 74 | 34 | 70.8 |
| Rifampisin | 29 | 82 | 38 | 79 |
| Siprofloksasin | 24 | 68 | 31 | 64.5 |
| Gentamisin | 34 | 97 | 27 | 56.2 |
| Netilmisin | 11 | 31 | - | - |
| Amikasin | 28 | 80 | 11 | 22.9 |
| TMP-SMX | 11 | 31 | 3 | 0.6 |
| Oksasilin | 35 | 100 | 48 | 100 |
| Teikoplanin | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Vankomisin | 0 | 0 | 0 | 0 |

4.6. Suşların Plazmid DNA Profilleri

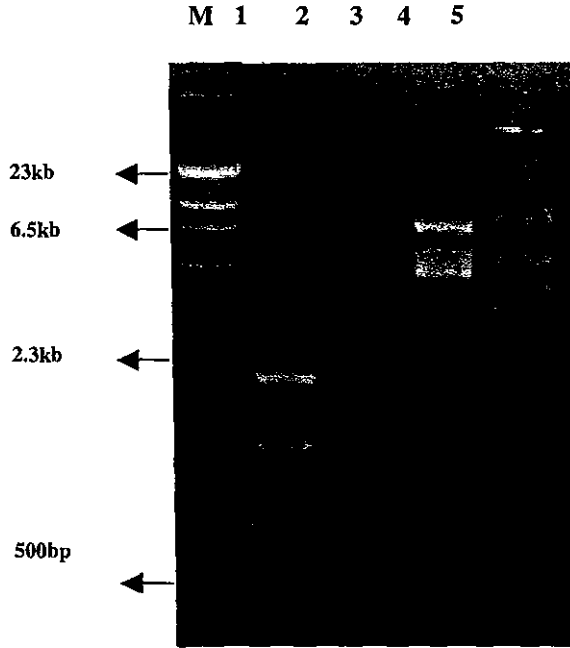
Çalışmaya alınan 35 MRSA suşunun plazmid DNA analizleri yapıldı. Agaroz jelde görülen sayısı ve büyüklüklerine göre (Resim 1) 35 MRSA suşunun 21'inde kromozomal DNA'dan küçük 2 adet plazmid DNA bandı (yaklaşık 1 kb ve 2.5 kb) gözlemlendi (Grup A). Farklı büyüklüklerde 7 adet plazmid DNA'sı içeren TSA 070 izolatu ise Grup B olarak isimlendirildi. İki izolat (TSA 063, TSA 076) moleküler büyüklükleri yaklaşık 0.9 kb, 1 kb ve 26 kb olan 3 adet plazmid DNA'sı içermekteydi (Grup D). Kromozomal DNA'dan büyük tek bant (yaklaşık 30 kb) içeren TSA 075, TSA 087, TSA 143 izolatları ise Grup E içerisinde sınıflandırıldı. Toplam 7 izolatta (TSA 062, TSA 079, TSA 081, TSA 093, TSA 090a, TSA 140 ve TSA 144) plazmid DNA'sı gözlenmedi (Grup C). Benzer plazmid DNA'sı gösteren izolatların Grup A, Grup B, Grup C, Grup D ve Grup E olarak sınıflandırılması Tablo 12'de verilmiştir.

Tablo 12: İzolatların Plazmid Profil Analizlerine (PPA) Göre Sınıflandırılması

| PPA'ya göre Gruplar | İzolat sayısı | PPA'daki bant sayıları |
|---------------------|---------------|---|
| A | 21 | 2 bant (1 ve 2.5 kb) |
| B | 1 | 7 bant (0.8, 0.9, 2.4, 18, 20, 30 ve 40 kb) |
| C | 8 | Plazmid izole edilemedi |
| D | 2 | 3 bant (0.9, 1 ve 26 kb) |
| E | 3 | 1 bant (30 kb) |



Resim 1. MRSA Suşlarından İzole Edilen Epidemik Plazmid DNA'ları. M, Moleküler marker (Lambda DNA HindIII); 1, A grubu (18 suştan izole edilen ortak plazmidler); 2; B grubu (TSA70 suşundan izole edilen plazmid); 3, Boş; 4, C grubu (TSA63 suşundan izole edilen plazmid); 5, D grubu (3 suştan izole edilen ortak plazmidler).



Resim 2. Epidemik Plazmid Gruplarının HindIII Restriksiyon Enzim Kesim Analizi. M, Moleküler Marker (Lambda DNA HindIII); 1, A Grubu Ortak Plazmid DNA'sı HindIII; 2, B Grubu Plazmid DNA'sı HindIII; 3, D Grubu Ortak Plazmid DNA'sı HindIII; 4, C Grubu Plazmid DNA'sı HindIII.

Tablo 13: İzolatların Antibiyotik Hassasiyet Testleri ve PPA ile Sınıflandırılması

| İzolat Kodu | Plazmid Profillerine Göre Grubu | Antibiyoqram Tipi |
|--------------------|--|--------------------------|
| TSA 051a | A | 4 |
| TSA 051c | A | 9 |
| TSA 052a | A | 3 |
| TSA 061 | A | 3 |
| TSA 066 | A | 9 |
| TSA 072 | A | 3 |
| TSA 089a | A | 2 |
| TSA 089d | A | 2 |
| TSA 089f | A | 1 |
| TSA 091 | A | 2 |
| TSA 094a | A | 4 |
| TSA 095 | A | 3 |
| TSA 096a | A | 9 |
| TSA 096c | A | 3 |
| TSA 096e | A | 1 |
| TSA 097a | A | 1 |
| TSA 097d | A | 3 |
| TSA 097f | A | 2 |
| TSA 098a | A | 9 |
| TSA 100 | A | 1 |
| TSA 138 | A | 3 |
| TSA 063 | D | 5 |
| TSA 076 | D | 1 |
| TSA 075 | E | 7 |
| TSA 087 | E | 7 |
| TSA 143 | E | 7 |
| TSA 070 | B | 10 |
| TSA 062 | C | 6 |
| TSA 073 | C | 3 |
| TSA 079 | C | 4 |
| TSA 081 | C | 8 |
| TSA 090a | C | 1 |
| TSA 093 | C | 1 |
| TSA 140 | C | 11 |
| TSA 144 | C | 11 |

4.7. Plazmid DNA'ların Restriksiyon Enzimi İle Kesimleri

Şekil 1'de 35 klinik suşun plazmidleri izlenmektedir. Elde edilen plazmid DNA'ları *HindIII* enzimi ile kesildi. Buna göre plazmid DNA'ların moleküler büyüklükleri hesaplandı. TSA 062, TSA 073, TSA 079, TSA 081, TSA 090a, TSA 093, TSA 140 ve TSA 144 suşlarında plazmid izole edilemediği için restriksiyon enzimi ile kesim uygulanmadı. PPA ile belirlenen 4 farklı grup plazmid DNA'sı *HindIII* enzimi ile kesildi (Şekil 2). Aynı grup içerisindeki plazmidlerin aynı profili gösterdikleri görüldü.

4.8. Epidemik ve Nonepidemik Plazmidlerin Belirlenmesi ve Gruplandırılması

Molekül büyüklükleri hesaplanan 29 plazmid A, B, D, E olarak gruplandırıldı (Tablo 12). Restriksiyon enzim paternleri değerlendirilerek A, B, C, D ve E grupları kendi aralarında epidemik ve nonepidemik plazmidler olarak gruplandırıldı.

4.9. AP-PCR Paternleri

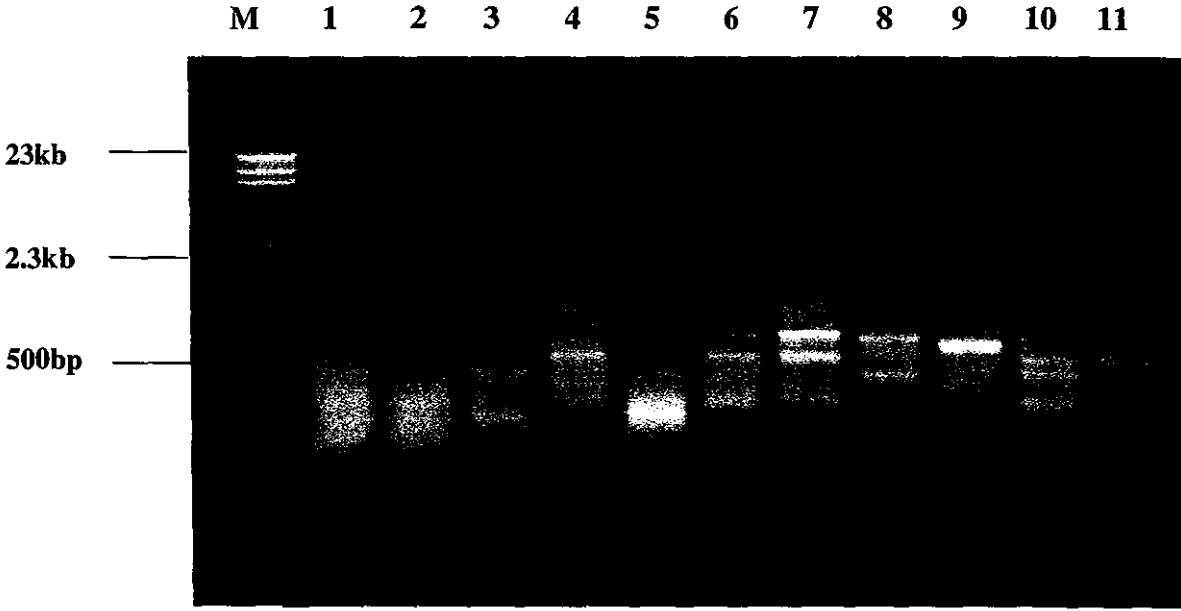
İzolatların tümüne arbitrarily primed PCR uygulandı. Ürünlerin agaroz jeldeki görüntülerine göre oluşan bant paternleri değerlendirildi (Şekil 3, 4).

İzolatlar arasında 7 farklı bant paterni saptandı. TSA 063 ve TSA 076 izolatlarının aynı paterni gösterdikleri izlendi. AP-PCR bant dizilimlerine göre Patern A olarak sınıflandırıldılar.

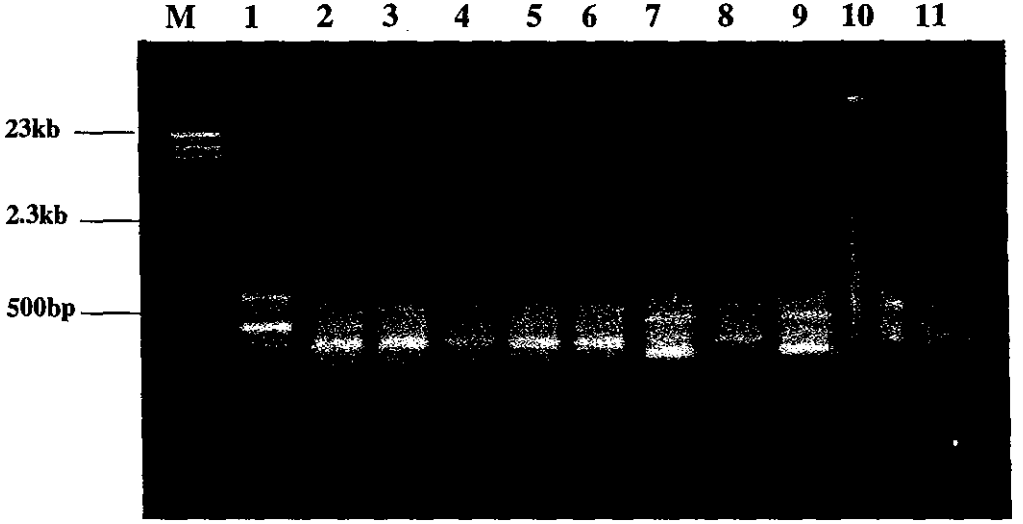
AP-PCR DNA'larına göre Patern B olarak adlandırılan TSA 143, TSA 062, TSA 051c, TSA 095, TSA 066 izolatları aynı sayı ve büyüklükte dizilim gösterdiler.

TSA 051a ve TSA 097d izolatları PCR sonucu agaroz jelde aynı büyüklük ve dizilimde bant paterni gösterdiler. Patern C olarak sınıflandırıldılar.

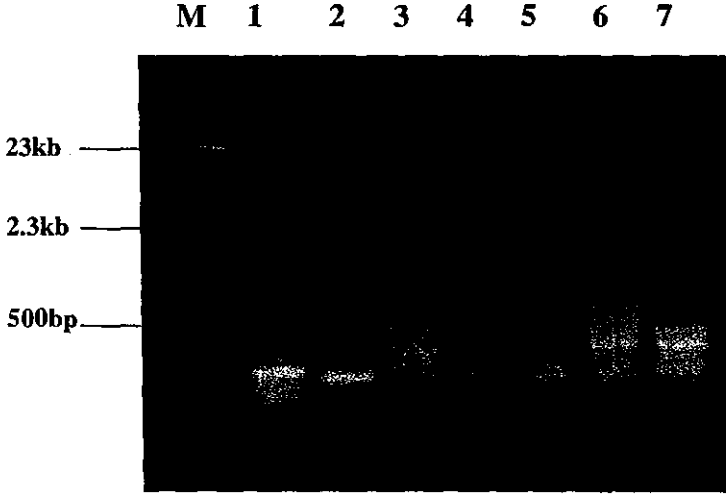
Patern A, Patern B ve Patern C izolatlarının hangi tanı ile kaç günlük hastane yatışı sonrası izole edildiği, antibiyotik kullanımı ve invaziv girişimleri, elde edildikleri materyal, antibiyogram tipi ve plazmid profillerine göre grupları Tablo 14, Tablo 15 ve Tablo 16’da verilmiştir.



Şekil 3. M; λ faj DNA *Hind* III, 1; TSA096a, 2; TSA096c, 3; TSA096e, 4; TSA087, 5; TSA086, 6; TSA063, 7; TSA076, 8; TSA075, 9; TSA089f, 10; TSA091, 11; TSA093.



Şekil 4. M; λ faj DNA *Hind* III, 1; TSA073, 2; TSA143, 3; TSA062, 4; TSA051c, 5; TSA095, 6; TSA066, 7; TSA051a, 8; TSA081, 9; TSA097d, 10; TSA097f, 11; TSA072.



Şekil 5. M; λ faj DNA *Hind* III, 1; TSA052, 2; TSA061, 3; TSA075, 4; TSA090a, 5; TSA070, 6; TSA100, 7; TSA144.

Tablo 14: AP-PCR ile A Paterni Gösteren İzolatların Özellikleri, Antibiyogram Tipi ve Plazmid Profilleri İle Karşılaştırılması

| İzolat No | Yatış Sebebi | Hastaneye Yatış Tarihi | Kültür Alınan Tarih | İzole Edilen Materyal | Antibiyotik Kullanımı | İnvaziv Girişim | Antibiyogram Tipi | Plazmid Grubu |
|------------------|---------------------|-------------------------------|----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------|--------------------------|----------------------|
| TSA 063 | Beyin Absesi | 09.05.00 | 29.06.00 | Trakeal Aspirat | 22 gün 2 Antibiyotik | + | Tip 5 | D |
| TSA 076 | Hemotoraks | 14.07.00 | 02.08.00 | Trakeal Aspirat | 15 gün 2 Antibiyotik | + | Tip 1 | D |

Tablo 15: AP-PCR ile B Paterni Gösteren İzolatların Özellikleri, Antibiyogram Tipi ve Plazmid Profilleri İle Karşılaştırılması

| İzolat No | Yatış Sebebi | Hastaneye Yatış Tarihi | Kültür Alınan Tarih | İzole Edilen Materyal | Antibiyotik Kullanımı | İnvaziv Girişim | Antibiyogram Tipi | Plazmid Grubu |
|-----------|------------------------|------------------------|---------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------|-------------------|---------------|
| TSA 051c | Subdural Hematom | 17.05.00 | 26.06.00 | Kan | 11 gün 2 Antibiyotik | + | Tip 9 | A |
| TSA 062 | Opere Kc Laserasyonu | 22.06.00 | 03.07.00 | Dren | 4 gün 4 Antibiyotik | + | Tip 6 | C |
| TSA066 | Subdural Hematom | 17.05.00 | 26.06.00 | Kan | 23 gün 5 Antibiyotik | + | Tip 9 | A |
| TSA 095 | Araç İçi Trafik Kazası | 24.11.00 | 11.12.00 | Kan | 17 gün 3 Antibiyotik | + | Tip 3 | A |
| TSA 143 | Mandibula Kırığı | 26.01.01 | 01.02.01 | Kan | 4 gün 2 Antibiyotik | + | Tip 2 | E |

Tablo 16: AP-PCR ile C Paterni Gösteren İzolatların Özellikleri, Antibiyogram Tipi ve Plazmid Profilleri İle Karşılaştırılması

| İzolat No | Yatış Sebebi | Hastaneye Yatış Tarihi | Kültür Alınan Tarih | İzole Edilen Materyal | Antibiyotik Kullanımı | İnvaziv Girişim | Antibiyogram Tipi | Plazmid Grubu |
|------------------|---------------------|-------------------------------|----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------|--------------------------|----------------------|
| TSA 051a | Subdural Hematom | 17.5.00 | 26.6.00 | Trakeal Aspirat | 11 gün 2 Antibiyotik | + | Tip 4 | A |
| TSA 097d | Hidrosefali | 09.11.00 | 14.12.00 | Trakeal Aspirat | 9 gün 3 Antibiyotik | + | Tip 3 | A |

5. TARTIŞMA

Stafilokoklar son yıllarda hastane infeksiyonları etkenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır (49).

Stafilokoklara bağlı infeksiyonlarda uygun tedavinin yapılabilmesi için metisilin direncinin belirlenmesi gereklidir. Metisilin direnci özellikle hastane izolatları söz konusu olduğunda tüm dünyada yaygın olarak görülen bir olaydır. Bu direnç hem coğrafi bölgeler arasında hem de aynı bölgedeki sağlık kuruluşları arasında değişkenlik gösterir. 1991 yılında Panlilio ve ark. (50) küçük hastanelerde (<200 yatak) *Staphylococcus aureus* suşlarında metisilin direncini %14.9, orta büyüklükteki hastanelerde (200-499 yatak) % 20.3, büyük hastanelerde (>500 yatak) ise % 38.3 olarak saptamışlardır. Ayrıca bu mikroorganizmaların büyük çoğunluğu diğer bir çok antibiyotiğe de direnç göstermesi bakımından önemlidir (51). Antimikrobiyal direncin hastaneden hastaneye önemli farklılıklar gösterdiği de ayrıca bilinmektedir (51).

Hastalık etkeni *S. aureus*'ların tedavisinde in vitro metisilin direncinin saptanması uygun antibiyotik seçimi için büyük önem taşımaktadır (52). *S.aureus* infeksiyonlarının tedavisinde antibiyotiklerin sağladığı başarı her geçen gün azalmaktadır. Metisilin direnci saptandığında tedavide beta laktam halkas taşıyan antibiyotikler kullanılmamaktadır. Metisiline dirençli *S. aureus* kökenlerinin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde vankomisin en güvenilir ajandır. Alternatif tedavi ajanlarının güvenle kullanılabilmesi için bu ajanlar karşı direnç durumlarının bilinmesi gerekir (53).

Bu çalışmada Farabi Hastanesi'nde hastane infeksiyonuna sebep olan MRSA suşları toplanmış, genotipik çalışmalara sadece CYBÜ suşları dah

edilmiştir. Türkiye’de 1995-1996 yıllarında 15 merkezden alınan sonuçlara göre cerrahi alan infeksiyon oranının diğer hastane infeksiyonları ile karşılaştırıldığında %10-60 ile ilk sırayı aldığı gözlenmiştir (54). Bir çok çalışmada Türkiye’de hastane infeksiyonlarının %20-25’inin yoğun bakım ünitesinde olduğu ve bu sıklığın nedeninin bu bölümde ağır seyirli hastaların izlenmesi, hastalara invaziv işlemler uygulanması olduğu belirtilmiştir (55). Hastanemizde klinik örneklerin gönderildiği servise göre dağılımı değerlendirildiğinde MRSA kökenli hastane infeksiyonlarının %49’unun CYBÜ hastalarından izole edildiği belirlendi. Pamukkale Üniversitesi’nde yapılan bir çalışmada hastane infeksiyonlarının %28.6’sının yoğun bakım ünitesinde saptandığı bildirilmiştir(56). Çaylan ve ark. (57) 1999 yılında hastanemizde MRSA kaynaklı nozokomiyal infeksiyonların %34’ünün CYBÜ’den izole edildiğini bildirmişlerdir. Yoğun bakım ünitelerinde, yatış süresinin uzun oluşu, fazla antibiyotik kullanımı, nazal kolonizasyon ve uygulanan invaziv girişimler (kateter, trakeostomi, nazogastrik tüp) gözönüne alındığında MRSA oranının diğer servislerden izole edilenlere oranla daha yüksek oluşu beklenen bir sonuçtur.

Yapılan bazı çalışmalarda MRSA’ya bağlı infeksiyonlar içinde operasyon sonrası yara ve deri infeksiyonu birinci sırada yer almaktadır (58, 59). Bu çalışmada metisiline dirençli suşların en çok kan, yara ve trakeal aspirat örneklerinden izole edildiğini saptadık. Hastanemizde 1999 yılında izole edilen suşların da benzer örneklerden izole edildiği rapor edilmiştir (57). Taysi ve ark. (60) metisilin ve siprofloksasin dirençli suşları sayısal olarak en fazla yara yeri, yumuşak doku lezyonları ve enstrümantasyon sonucu oluşan infeksiyonlardan izole etmişlerdir.

Çalışmamızda yoğun bakım kaynaklı MRSA’ların antibiyotiklere direnç oranları, diğer yataklı servislerden gönderilen örneklerden izole edilen MRSA’lardan yüksek bulunmuştur. Suşların hepsi penisiline dirençli bulunurken, eritromisin ve klindamisin dirençleri sırasıyla, CYBÜ kaynaklı suşlarda %74 ve %74, diğer servislerden izole edilen suşlarda %54 ve %70.8 olarak saptanmıştır.

CYBÜ kaynaklı suşların siprofloksasin, gentamisin, amikasin ve rifampisin dirençleri sırasıyla %68, %97, %80 ve %82 bulunurken, diğer servislerden izole edilen MRSA'larda bu direnç oranlarının daha düşük olduğu (%64.5, %56.2, %22.9 ve %79) dikkat çekicidir. Toplam 83 MRSA suşunda trimetoprim-sulfometaksazol dirençli 14 izolatın yalnızca üçünün yoğun bakım dışındaki servislerden izole edildiği görüldü. Bu çalışmada trimetoprim-sulfometaksazol direncinin yoğun bakım kaynaklı suşlarda belirgin olarak artışı dikkat çekicidir.

Yapılan birçok çalışmada teikoplaninin vankomisine eşdeğer etkinlikte olduğu, yan etkiler ve uygulama kolaylığı yönünden ise vankomisine alternatif olabileceği gösterilmiştir. Ancak teikoplanin tedavisi alan hastalarda dirençli *S.aureus* suşlarının geliştiği de bildirilmiştir (49). NCCLS standartlarına göre *S.aureus* için vankomisin duyarlılık sınır değerleri; MİK < 4µg/ml ise duyarlı, MİK 8-16 µg/ml ise orta düzey dirençli ve MİK > 32µg/ml ise dirençli olarak kabul edilmektedir (51). Vankomisine azalmış duyarlılık gösteren ilk klinik MRSA izolatı Japonya'da 1996 yılında Hiramatsu ve ark. tarafından tanımlanmıştır. Bu izolatın MİK değeri, mikrodilüsyon yöntemi ile 8µg/ml olarak tespit edilmiştir. Bu olguyu takiben, Ağustos 1997'de Amerika'da vankomisine orta duyarlı MRSA suşu bildirilmiştir (61). Daha sonra Fransa'dan bir olgu MİK değeri 8 µg/ml tespit edilmiştir. NCCLS kriterlerine göre orta dirençli kabul edilen bu suşlar vankomisin veya glikopeptid orta dirençli *S. aureus* (VISA veya GISA) olarak adlandırılmıştır (53). Bu çalışmada 83 MRSA izolatında vankomisine direnç gözlenmemiştir. Bu sonuçlar glikopeptid antibiyotiklerin metisilin dirençli stafilokok infeksiyonlarında hala standart ilaç olduğunu göstermektedir. Ancak bu antibiyotiklere direnç gelişme olasılığına karşı yaygın kullanımlarından kaçınılması, antibiyotik direnç paternlerinin izlenmesi ve surveyans çalışmalarının yaygınlaşması gereklidir. Türkiye'de yapılan bir çok çalışmada henüz vankomisin ve teikoplanine dirençli suşta rastlanmamıştır (62).

Stafilokoklardaki metisilin direnci, bilindiği gibi sadece metisiline değil 'in vitro antibiyogram sonuçlarına bakılmaksızın' tüm beta-laktam

antibiyotiklere karşı da direnci simgeler (57). Çalışmamızda tüm suşların penisiline dirençli olduğunu saptadık. Kaleli ve ark. (62) MRSA suşları ile yaptıkları çalışmada tüm suşların penisilin G ve ampisiline dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Çaylan ve ark. (57) 1997, Yorgancıgil ve ark. (52) 1999 yılında yaptıkları çalışmalarda penisilin direncini % 100 olarak rapor etmişlerdir. Arıkan ve ark. (63) %94 penisilin G direnci saptarken, Birengel ve ark. (64) bu direnci %93.3 bulmuşlardır.

MRSA suşları genellikle beta laktamaz/ beta laktamaz inhibitörleri kombinasyonlarına da direnç gösterirler (62). Ancak bazı MRSA suşlarının in vitro ampisilin-sulbaktam kombinasyonuna duyarlı oldukları gösterilmiştir (65). Bu çalışmada ampisilin direnci %77 olarak saptandı. MRSA suşları ile yapılan çalışmalarda Arıkan ve ark. (63) %94, Birengel ve ark. (64) ise %88.9 ampisilin direnci bulmuşlardır.

Bu çalışmada eritromisin direnci %69, klindamisin direnci ise %72 olarak bulundu. Arıkan ve ark. (63) 1994 yılı çalışmalarında MRSA'larda eritromisin direncini %56, klindamisin direncini ise %58 tespit etmişlerdir. Arman ve Tural (66) yaptıkları çalışmada direnç oranını eritromisin için %80, klindamisin için %82 olarak bildirmişlerdir. Ulusoy ve ark. (67) 1995 yılında MRSA suşlarında %62 klindamisin direnci saptamışlardır. Değerli ve ark. (49) 1996-1998 yıllarını içeren çalışmalarında MRSA suşlarında klindamisin direncini %27 bulmuşlardır. 1998 yılında Kaleli ve ark. (68) yaptıkları çalışmalarda klindamisin direncini %22.6, Saltoğlu ve ark. (69) %38.4 bulmuşlardır. Yorgancıgil ve ark. (66) 1999 yılında gerçekleştirdikleri çalışmada MRSA suşlarında eritromisin direncini %63.3, klindamisin direncini ise %57.1 bulmuşlardır. Bu sonuçlar Türkiye'de MRSA suşlarının makrolid grubu antibiyotiklere benzer oranlarda direnç geliştirdiğini doğrulamaktadır.

Avrupa'daki değişik ülkelerde yapılan çalışmalarda ise eritromisine %38.4-96.8, klindamisine %32.2-96.8 direnç bildirilmektedir. Klindamisin direnci ülkeler arası farklılıklar göstermiş, Avusturya'da %30 bulunurken İspanya'da %96.8 direnç saptanmıştır. Avrupa ülkelerinde eritromisin direnci

Almanya'da %38.4, İtalya'da %44.6, Hollanda'da %55.5, İsviçre'de %58.8, Avusturya'da %65, Fransa'da %83.3, Belçika'da %87.5, İspanya'da %96.8 bulunmuştur (1).

Bu çalışmada MRSA suşlarının trimetoprim-sulfametoksazole direnç oranı %31 bulundu. Sultan ve ark. (70) 1991 yılında MRSA suşlarında trimetoprim-sulfametoksazol direncini %41.5, Ulusoy ve ark. (67) 1995 yılı çalışmalarında %38.5 rapor etmişlerdir. Değerli ve ark. (49) 1996-1998 yıllarında Celal Bayar Üniversitesi Hastanesi'nde %6, Yorgancıgil ve ark. (66) 1999 yılında yaptıkları çalışmada %38.1 trimetoprim-sulfametoksazol direnci bildirmişlerdir. Çavuşoğlu ve ark. (71) 1999 yılında hastanelerinde MRSA suşlarında sulfametoksazol direncini %11.4 bulmuşlar. Kaleli ve ark. (68) Pamukkale Üniversitesi'nde yaptıkları çalışmada bu oranı %44 saptamışlardır. İnan ve ark. (72) SXT direncini metisiline dirençli suşlarda %30.4 bulmuşlardır. TMP-SXT'ye direnç Avrupa'da yapılan değişik çalışmalarda %47.1-75.9 arasında bildirilmiştir (1, 28). Avrupa ülkelerinde trimetoprim-sulfametoksazol direnci incelendiğinde ülkeler arasında büyük farklar olmadığı görülmüştür. İsviçre'de %47.1, Almanya'da %52.3, İtalya'da %53.7, Avusturya ve İspanya'da %67.5, Belçika'da %75.9 saptanmıştır. Türkiye'de yapılan çalışmalarda ise %10-38.5 arası değerler saptanmıştır. Bu oranlar vankomisine alternatif bir ajan olarak TMP-SXT'nin kullanılabilirliği açısından ümit vericidir.

MRSA' larda rifampisin direnci kinolon direnci gibi siktir ve seleksiyonu izleyen kromozomal mutasyonlara bağlı olarak gelişir (73). Bu çalışmada rifampisin direnci %80 bulundu. Ulusoy ve ark. (67) 1995 yılında MRSA suşlarının %77'sini rifampisine dirençli bulmuşlardır. Değerli ve ark.. (49) MRSA suşlarında sırasıyla %7 ve %11 direnç oranları ile rifampisin ve ofloksasin duyarlılığını yüksek bulmuşlardır. Avrupa'nın değişik ülkelerinde MRSA suşlarının diğer antibiyotiklere direnç oranları incelendiğinde; rifampisin direnci Almanya'da %14, Avusturya'da %17.1, Belçika'da %18.6, İspanya'da %39.9, Hollanda'da %44.4, Fransa'da %54.4, İtalya'da %57.9 bulunurken,

MRSA insidansının %1.8 olduğu İsviçre'de rifampisin direnci %0 olarak bildirilmiştir (74).

Tripodi ve ark. (75) MRSA suşlarının hepsinin kinolonlara, gentamisin ve rifampine dirençli olduğunu, bu çoklu direncin tedaviyi zorlaştırdığını belirtmişlerdir.

MRSA'ların yüksek düzeyde gentamisin direnci gösterdikleri bilinmektedir (79). MRSA'larda aminoglikozid direnci oldukça yaygın olup, tüm aminoglikozidlere karşı olması en sık rastlanan şeklidir (68). Bu çalışmada gentamisin direncini %73.4 olarak saptadık. MRSA suşları ile yapılan diğer çalışmalarda gentamisin direncini Yorgancıgil ve ark. (66) 1999 yılında %71.4, Ulusoy ve ark. (67) 1995 yılında %85.9 gibi yüksek düzeylerde rapor etmişlerdir. Türkiye'de yapılan çalışmalarda MRSA'larda gentamisin direnci İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde (1988) %72.6 (77), Hacettepe Tıp Fakültesi'nde (1994) %83 olarak bulunmuştur (78). Değerli ve ark. (49) inceledikleri MRSA suşlarında gentamisin direncini %9 bulmuşlardır. Kocagöz ve ark. (79) MRSA suşlarında gentamisin direncini %13.4 bildirmişlerdir. Bizim çalışma sonuçlarımız da gözönüne alındığında Türkiye'de gentamisine dirençli *Staphylococcus aureus*'ların yıllar içerisinde artış gösterdiği ve tedavi seçiminde önemli sorun oluşturabileceği düşünülebilir.

Bu çalışmada amikasin direnci %46 bulundu. Sultan ve ark. (70) 1991 yılında MRSA suşları ile yaptıkları çalışmada amikasine %25, netilmisine %26 ve gentamisine %54 direnç bildirmişlerdir. MRSA'larda gentamisin direnci sıklıkla kinolon direnci ile birlikte görülmektedir (49).

Siprofloksasin son yıllarda MRSA tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir antibiyotiktir. Geniş spektrumlu aktivitesinin yanında oral yoldan da kullanılması, kullanım kolaylığı ve düşük maliyeti çok yaygın kullanımına neden olmuştur (60). Ancak bu denli yoğun kullanımı özellikle MRSA'larda kinolon direncini ortaya çıkarmıştır (60-66). Özellikle metisilin dirençli suşlarda kinolon direncinin de yüksek olduğu bilinmektedir ve ağır *S.aureus* infeksiyonlarında kinolon monoterapisi sırasında direnç gelişimi sıktır (76). MRSA'larda kinolon

direnci DNA giraz enzimindeki değişiklikler veya enerjiye bağımlı efluks sisteminin artmasıyla ilişkilidir (76). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada MRSA'larda kinolon direnci 1987 yılında %2-4 bulunurken, 1989 yılında %52 saptanmıştır (60). Türkiyede 1987-90 yıllarında yapılan çalışmalarda *S.aureus* suşlarının kinolon direnci %0-11 oranlarında bildirilirken son yıllarda %80'e varan direnç gelişiminden söz edilmektedir (130). Sultan ve ark. (70) 1991 yılında MRSA'larda siprofloksasin direncini %8.2, İnan ve ark. (72) 1992 yılında %56.5, Erkmen ve Güngör (80) 1996 yılında %8.3, Leblebicioğlu ve ark. (81) 1998'de %86.9 olarak bildirmişlerdir. Tayşi ve ark. (60) 1998 yılında Gazi Üniversitesi'nde bu direnci %83 bulmuşlardır. 1999 yılında yapılan çalışmalarda Tülek ve ark. (75) siprofloksasin direncini %95.5, Yorgancıgil ve ark. (66) %44.4 bulmuşlardır. Yapılan diğer çalışmalarda MRSA'larda siprofloksasin direncini Zarakolu ve Güvener (82) %82, Ulusoy ve ark. (67) %50, Gürler ve ark. (83) %43, Çavuşoğlu ve ark. (71) %88.8 saptamışlardır.

Hastanemizde tüm servislerden izole edilen MRSA suşlarında siprofloksasin direnci %66, CYBÜ kaynaklı suşlarda ise % 68 bulundu. Çaylan ve ark. (57) 1999 yılında hastanemizde gerçekleştirdikleri çalışmada MRSA suşlarında siprofloksasin direncini %80 olarak bildirilmişlerdir.

Sonuçlar kinolon direncinin yıllar içerisinde artış gösterdiğini ve cerrahi kaynaklı suşlarda kinolonlara daha yüksek oranlarda direnç geliştiğini göstermektedir.

Avrupa ülkelerinde yapılan geniş kapsamlı çalışmalarda MRSA'larda siprofloksasin direncinin bir çok ülkede %80'in üzerinde olduğu bildirilmiştir (84). Kinolon direnci irdelendiğinde; İsviçre'de %52.9, Hollanda'da %55.5, Avusturya'da %82.9, İtalya'da %83.8, İspanya'da %84.7, Belçika'da %91.7, Almanya'da %93, Fransa'da %96 saptanmıştır. Kinolonlar stafilokok infeksiyonlarının tedavi seçenekleri arasında olmakla birlikte mikroorganizmayı tam eradike edememesi ve kinolonlara karşı direnç gelişmesinden dolayı tedavide tek başlarına kullanımları uygun bulunmamaktadır (28).

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yoğun bakım ünitesi hastaları klinik örneklerinde yapılan çalışmalarda (85) 1997 yılında MRSA izolatlarında %100 gentamisin direnci, %96.8 siprofloksasin direnci, %56.5 klindamisin direnci, %6.5 TMP-SXT direnci saptanmıştır. Çalışmamızda CYBÜ kökenli suşlarda gentamisin, siprofloksasin ve klindamisin direnci sırasıyla % 97, % 68 ve % 74 bulundu.

Çalışmamızda plazmid analizi ve antibiyotik hassasiyet testleri karşılaştırıldığında aynı gruba giren ve girmeyen suşların varlığı görüldü. Plazmid profil analizinde elde edilen DNA bant paternlerinin sayı ve büyüklüklerine göre 4 grup olarak belirlendi (Grup A, B, D, E). Plazmid izole edilemeyen suşlar ayrı bir grupta toplandı (Grup C). Aynı suşlar antibiyotik hassasiyet testlerine göre 11 tip altında toplandı. Antibiyogram Tip 1 içerisinde 7 izolat, Antibiyogram Tip3 içerisinde ise 8 izolat yer almaktaydı.

Yirmibir MRSA izolatı aynı plazmid DNA paternini gösterdi ve Grup A olarak belirlendi. Bu grup içerisindeki suşlar antibiyotik hassasiyetlerine göre sınıflandığında ise 7 suşun Antibiyogram Tip 3, 4 suşun Antibiyogram Tip 1, 4 suşun Antibiyogram Tip 9 profilini gösterdikleri belirlendi. Grup B' nin tek üyesi olan TSA 070 izolatında 7 farklı plazmid bant profili ve Tip 10 antibiyogram hassasiyeti saptandı. TSA 063 ve TSA 076 izolatlarının Grup D plazmid profiline sahip oldukları izlendi, ancak antibiyotik hassasiyet testleri arasında benzerlik bulunamadı. PPA'ya göre Grup E olarak sınıflandırılan 3 MRSA suşunun (TSA 075, TSA 087, TSA 143) antibiyotik hassasiyet testleri de aynı bulundu. Antibiyogram sonucuna göre Tip 7 olarak sınıflandırılan bu 3 izolatta metisilin direnciyle birlikte penisilin, ampisilin ve amikasin direnci de belirlendi. Bu 3 izolat da kan kültürlerinden izole edilmişti. Hem plazmid profil analizlerinin hem de antibiyotik hassasiyet testlerinin aynı olması bu 3 izolatın aynı kökenden geldiğini düşündürdü. Bu sonuçlar plazmid profil analizi ile antibiyotik hassasiyet testlerinin birarada kullanılması ile *S.aureus* epidemiyolojisi hakkında bilgi edinilebileceğini göstermektedir. Ancak plazmidlerin suşlar arasında kayı ve kazanılmasına bağlı olarak profillerin değişiklik gösterebileceği, test edilen

bazı antibiyotik dirençlerinin kromozomal kaynaklı olabileceği unutulmamalıdır. Her iki yöntemin de hızlı ve kolay uygulanabilirliği, MRSA izolatlarının kontrol ve takibinde birlikte kullanılabilmesini göstermektedir.

Bu çalışmada 29 plazmidin *Hind*III restriksiyon analizi ile belirlenen plazmidler arasındaki benzerliklere göre A, B, D ve E olmak üzere 4 tip olarak gruplandırıldı. A grubundan 21, D grubundan 2, E grubundan 3 izolat kendi gruplarında aynı restriksiyon enzim kesim paterni gösterdiğinden dolayı epidemik plazmidler olarak, tek plazmid örneği içeren Grup B ise kendine özgü patern gösterdiği için nonepidemik plazmid olarak değerlendirildi.

Bu çalışmada hastane infeksiyonlarına neden olan MRSA'ların kaynağının ve geçiş yollarının bulunabilmesi için moleküler epidemiyolojik tiplendirme yöntemlerinden biri olan AP-PCR kullanıldı. Amaç epidemiyolojik olarak tek atadan (klonal) çoğalan suşları, diğer suşlardan yani epidemik ile ilişkisi olmayan suşlardan ayırtmektir. CYBÜ'den izole edilen MRSA izolatları ERIC primeri kullanılarak PCR'a tabi tutuldu. 35 MRSA suşu 7 farklı DNA bant paterni gösterdi (Patern A, B, C, D, E, F veG).

Patern A içerisindeki TSA 063 ve TSA 076 izolatlarında farklı büyüklüklerde 4 DNA bandı belirlendi. Bu 2 izolat Grup D plazmid profiline sahipti. Bu izolatların ikisi de trakeal aspirattan izole edilmişti. TSA 063 suşunun izole edildiği hasta beyin absesi tanısı ile hastaneye yatırılmış, 50 gün CYBÜ'de yatarak 22 gün amikozid ve sulperazon tedavisi verilmiş, trakeostomi, santral venöz kateter ve idrar sondası gibi invaziv girişimler uygulanmıştı. TSA076 suşunun izole edildiği hasta hemotoraks sebebiyle hastaneye yatırılmış, 15 gün siprofloksasin ve amikasin tedavisi verilmiş, göğüs tüpü, santral venöz kateter ve trakeostomi uygulanmıştı. TSA063 izolatı haziran 2000'de, TSA076 izolatı ise temmuz 2000'de izole edilmişti. pTSA063 ve pTSA076 plazmidleri restriksiyon enzimi ile kesildiğinde de aynı bant profilini göstermiştir. Her üç moleküler tiplendirme yöntemi ile aynı profili gösteren, antibiyotik hassasiyetleri aynı olan TSA063 ve TSA076 izolatları epidemik olarak nitelendirildi.

AP-PCR ile yapılan grupta en fazla izolatu içeren Patern B oldu. Bu paternde yer alan 6 MRSA izolatu, PPA yönünden irdelendiğinde 4 izolat Grup A, birer izolat ise Grup C ve E içerisinde yer almaktaydı. Bu izolatların antibiyotik hassasiyet testleri kendi aralarında benzerlik göstermiyordu. Moleküler biyolojik tiplendirme yöntemlerinden biri olan AP-PCR'ın çalışmada kullanılan diğer yöntemlere üstünlüğü gözönüne alındığında (43) Patern B'de yer alan 6 izolatu tek atadan çoğalan suşlar olduğu söylenebilir. Epidemiyolojik olarak nitelenen bu suşların hepsinin CYBÜ'de yatış sürelerinin 29 günden fazla oluşu dikkat çekicidir ve bu hastaların hepsinde en az 11 gün, ortalama 3 antibiyotik ile tedavi uygulanmıştır.

Kısa ve ark. (86) cerrahi kliniklerde yatan hastalardan izole ettikleri 30 MRSA suşunu AP-PCR yöntemi ile 7 gruba ayırmışlardır. PPA yöntemi ile ise 3 farklı grup belirlemişlerdir.

Çetinkaya ve ark. (47) 1995-1996 yıllarını içeren sürede Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde epidemi oluşturan MRSA suşlarını AP-PCR ile tiplendirmişler ve tüm izolatlar benzer antibiyotik hassasiyeti gösterirken, PCR ile farklı 2 majör patern göstermişlerdir.

Fang ve ark. (87) plazmitlerin restriksiyon analizini ve suşların AP-PCR'larını karşılaştırdıkları çalışmada bu iki yöntemin birbirini tamamladığını bildirmişlerdir.

MRSA kaynaklı nozokomiyal infeksiyonların kontrolü ve erken sağıltımı için elde edilen direnç oranlarının klinisyenlere bildirilerek uygun antibiyotik kullanımının sağlanması gereklidir. Hastane infeksiyonlarının kontrolünün sağlanabilmesi için hastane infeksiyonları sörveyans çalışmalarının sürdürülerek her merkezin kendi hastane florasını oluşturan mikroorganizmaları, direnç paternlerini, her bölümdeki infeksiyon sıklığını ve dağılımını belirlemesi gerekir.

S. aureus suşlarında metisilin direnci varlığında diğer antibiyotik duyarlılıklarının azaldığı saptanmıştır. Laboratuvarlar tarafından MRSA suşlarının saptanması ve hastane infeksiyonlarının yayılımının uygun önlemlerle

kontrol altına alınması hasta ve toplum sağlığı açısından önemlidir. İnfeksiyonun kontrolü için direnç profillerinin çıkarılıp izlenmesi gereklidir.

Bizim hastanemizde, özellikle yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan izole edilen MRSA suşlarında beta laktamlar dışında bir çok antibiyotiğe de çoklu direnç görülmüştür. Bu nedenle, bu bakterilerin neden olduğu ciddi infeksiyonların tedavisinde, duyarlılık testleri sonuçlanana kadar seçilebilecek en güvenilir antibiyotik vankomisindir. Ancak duyarlılık testleri belirlendiğinde daha ekonomik seçeneklerin de bulunabileceği bir gerçektir.

Hastanemizdeki antibiyotik kullanımının değerlendirildiği bir çalışmada, dahili birimlerde %49.6, cerrahi birimlerde %78.7 oranında uygunsuz antibiyotik kullanıldığı ve dahili birimlerde üçüncü kuşak sefalosporin kullanımının %48.3 oranına ulaştığı saptanmıştır. Bu bulgular, MRSA infeksiyonlarındaki sıklığın nedenini izah etmektedir (84).

Metisilin dirençli stafilokok infeksiyonları, tedavi ve alınması gereken önlemler açısından hastane infeksiyonları arasında önemli bir yer oluşturmaktadır. Bu nedenle, belirli dönemlerde epidemiyolojik çalışmaların yapılması, bu infeksiyonların servislerdeki sıklığının belirlenmesi, hastane personelinin taranması ve personelin hastane infeksiyonları konusunda eğitilmesi büyük önem taşımaktadır.

Yapılacak epidemiyolojik çalışmalar etkili infeksiyon kontrol programlarının ve ampirik tedavi rejimlerinin seçilmesinde esas oluşturacaktır.

6- SONUÇ ve ÖNERİLER

SONUÇLAR:

1. Hastanemizde klinik örneklerin gönderildiği servise göre dağılımı değerlendirildiğinde MRSA kökenli hastane infeksiyonlarının %49'unun CYBÜ hastalarından izole edildiği belirlendi.
2. Yoğun bakım kaynaklı MRSA'ların antibiyotiklere direnç oranları, diğer yataklı servislerden gönderilen örneklerden izole edilen MRSA'lardan yüksek bulundu.
3. İzole edilen 83 MRSA suşunda vankomisine direnç gözlenmedi
4. Suşların hepsi penisiline dirençli bulundu.
5. CYBÜ kaynaklı suşlarda eritromisin ve klindamisine %74 siprofoksasine %68, gentamisine %97, amikasinine %80 ve rifampisine %82 direnç saptandı.
6. Toplam 83 MRSA suşunda trimetoprim-sulfometaksazol dirençli 14 izolatin yalnızca üçünün yoğun bakım dışındaki servislerden izole edildiği görüldü.
7. Plazmid profil analizinde elde edilen DNA bant paternlerinin sayı ve büyüklüklerine göre 4 grup belirlendi (Grup A, B, D, E). Plazmid izole

edilemeyen suşlar ayrı bir grupta toplandı (Grup C). Yirmibir MRSA izolatı aynı plazmid DNA paternini gösterdi (Grup A)

8. Antibiyotik hassasiyet testlerine göre izolatlar 11 farklı tipe ayrıldı. Bunlar içerisinde en fazla Tip 1 içerisinde 7 izolat, Tip 3 içerisinde ise 8 izolat bulunmaktaydı.
9. PPA'ya göre Grup A 'da 21, Grup D'de 2, Grup E'de 3 izolat kendi aralarında aynı restriksiyon enzim kesim paterni gösterdiğinden dolayı epidemik plazmidler olarak belirlendi. Grup B ise kendine özgü patern gösterdiği için nonepidemik plazmid olarak değerlendirildi.
10. AP-PCR ile yapılan gruptamada epidemik suşları içeren 3 patern saptandı (Patern A, B ve C).
11. Hem PPA, hem de AP- PCR ile aynı profili gösteren TSA063 ve TSA076 izolatları (PPA ile Grup D, PCR ile Patern A) epidemik MRSA suşları olarak nitelendirildi.
12. AP-PCR ile özdeş oldukları belirlenen TSA 051c, TSA 062, TSA 066, TSA 095, TSA 143 izolatları epidemik MRSA suşları olarak belirlendi.
13. AP-PCR'da C Paterni gösteren TSA 051a ve TSA 097 d izolatları epidemik suşlar olarak nitelendirildi.
14. Epidemik suşlar olarak nitelenen bu suşların hepsinin CYBÜ'de yatış sürelerinin 29 günden fazla olan hastalardan izole edildiği görüldü. Bu hastaların hepsinde en az 11 gün, ortalama 3 antibiyotik ile tedavi uygulanmış olduğu belirlendi.

ÖNERİLER

1. Hastane infeksiyonlarının kontrolünün sağlanabilmesi için hastane infeksiyonları sürveyans çalışmalarının sürdürülerek hastane florasını oluşturan mikroorganizmaları, direnç paternlerini, her bölümdeki infeksiyon sıklığını ve dağılımı belirlenmesine devam ettirilmeli.
2. MRSA kaynaklı nozokomiyal infeksiyonların kontrolü ve erken sağaltımı için direnç oranları klinisyenlere bildirilerek uygun antibiyotik kullanımı sağlanmalı.
3. Hastane infeksiyonları ile mücadelede özellikle hastane personeli hastane infeksiyonları konusunda eğitilmelidir.
4. Özellikle yoğun bakım ünitesinde nozokomiyal MRSA'ların kaynağının saptanması, yayılımının kontrol altına alınması, izolatların tanımlanması ve tiplendirilmesi için epidemiyolojik çalışmalar sürdürülmelidir.
5. Antibiyotik hassasiyet testleri ve plazmid profil analizinin hızlı ve kolay uygulanabilen yöntemler olduğu, MRSA izolatlarının kontrol ve takibinde birlikte kullanılabileceğini gösterilmiştir.
6. Moleküler biyolojik genotipik yöntemlerden biri olan AP-PCR, farklı polimorfik özellikleri ortaya koyabilecek, güçlü ayırım yeteneğine sahip, basit ve duyarlı bir yöntem olarak epidemiyolojik çalışmalarda yararlıdır.

7. Epidemik suşların, klonal farklılıkları tam olarak belirleyebilen pulsed field gel electrophoresis (PFGE) yöntemini ilerideki çalışmalarda kullanabilme olasılıkları araştırılmalıdır.

7. ÖZET

Bu çalışmada KTÜ Farabi Hastanesinde nozokomiyal infeksiyon etkeni olan Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşlarının antimikrobiyal duyarlılık testleri, plazmid profil analizleri ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak epidemiyolojisi araştırıldı.

Çeşitli servislerde yatan hastaların klinik örneklerinden 6 aylık periyotta izole edilen 83 MRSA suşu toplandı. Bunlardan Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi (CYBÜ) kaynaklı 33 izolat çalışmaya dahil edildi.

MRSA suşları antibiyotik hassasiyet testlerine göre 11 tip, plazmid profil analizlerine göre 5 grup ve PCR tiplendirmesine göre 3 epidemik grup içinde toplandılar.

Genomik tiplendirme yöntemlerinden biri olan arbitrarıy primed-PCR'ın (AP-PCR) çalışmada kullanılan diğer yöntemlere üstünlüğü göz önüne alındığında, CYBÜ'de 6 aylık periyotta en az 3 kez MRSA'nın epidemisi tespit edildi.

8. SUMMARY

Determination of Epidemic MRSA Strains Causing Nosocomial Infections and typing by Antimicrobial Susceptibility Tests, Plasmid Profile Analysis and PCR

In this study, methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains causing nosocomial infections in Farabi Hospital of Karadeniz Technical University were epidemiologically investigated by antimicrobial susceptibility test, plasmid profile analysis and polymerase chain reaction (PCR).

Eighty-three MRSA isolates from various clinical specimens were collected in the period of six months. Of the 83 MRSA isolates, 33 from surgical intensive care unite (ICU) were included in the study.

Eleven, five and three groups were determined to be epidemic based on antimicrobial susceptibility test, plasmid profile analysis and PCR typing, respectively.

Since arbitrarily primed-PCR (AP-PCR), one of the genomic typing methods, was superior to the other methods used, at least three groups of MRSA strains were concluded to be epidemic in the surgical ICU in the period of six months.

9. KAYNAKLAR

1. Çetinkaya Y, Ünal S: Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* infeksiyonları: epidemiyoloji ve kontrol. Flora.3: 3-16, 1996.
2. Gündeş SG, Yazıcı S: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* infeksiyonlarında Farklı Tedavi Stratejileri. Sendrom., 12: 62-65, 2000.
3. Durmaz B: Hastanede MRSA Kontrol Politikası, MRSA Kolonizasyonunun Eradikasyonu. Hastane İnfeksiyonları Dergisi. 3: 196-201, 1999.
4. Ulusoy S: Dirençli Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Hastane İnfeksiyonları Dergisi. 3: 212-221, 1999.
5. Akkuş N, Biberoglu K, Tarhan O: Yoğun bakım ünitesinde infeksiyon risk faktörleri. Hastane İnfeksiyonları Dergisi. 1: 101-105, 1997.
6. Sancak B: *Staphylococcus aureus*'da metisilin direnç mekanizmaları. Mikrobiyoloji Bülteni. 34: 381-389, 2000.
7. Köksal F: Moleküler biyolojik tiplendirme yöntemlerinin hastane infeksiyonlarında kullanımı. Hastane İnfeksiyonları Dergisi. 3: 189-195, 1999.
8. Kılıçturgay K: Klinik Mikrobiyoloji. 2. Baskı. Güneş-Nobel Tıp Kitabevleri, Bursa, 1994, s. 5-13.
9. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyoloji. 9. Baskı. Şafak Matbaacılık, İzmir, 1995.
10. Murray PR, Roshental KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: Medical Microbiology. Third Edition. Mosby, Inc, St. Louis, 1998, pp. 175-189.
11. Giesbrecht P, Kersten T, Maidhof H, Wecke J: Staphylococcal cell wall: morphogenesis and fatal variations in the presence of penicillin. Microbiology And Molecular Biology Reviews,62(4): 1371-1414, 1998.

12. Ustaçelebi Ş: Temel Ve Klinik Mikrobiyoloji. 1. Baskı. Güneş Kitabevi Ltd. Şti. Ankara, 1999, s. 339-347.
13. Sancak B, Günalp A: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi yoğun bakım üniteleri hastalarında metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'a bağlı kolonizasyon ve enfeksiyon. Mikrobiyoloji Bülteni. 33: 267-276, 1999.
14. Evans AS, Bracham PS: Bacterial Infections of Humans. Second Edition. Plenum Publishing Corporation, New York and London, 1991, pp. 621-639.
15. Bradley FS: Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Long-term care concerns. The American Journal of Medicine. 106(5a): 2S-10S, 1999.
16. Güneri S.: Gram-Pozitif koklarda antimikrobiyal direncin yol açtığı yeni problemler. Turkish Journal Of Infection 12(3): 271-276, 1998.
17. Tanır G, Göl N: Antibiyotik Direnci. Klimik Dergisi. 12(2): 47-54, 1999.
18. Töreci K: Bakterilerde antibiyotik direnci ve hastane enfeksiyonları ile ilişkisi. Hastane İnfeksiyonları Dergisi. 3(3): 117-125, 1999.
19. Jeljaszewicz J, Mlynarczyk G, Mlynarczyk A: Antibiotic resistance in Gram-positive cocci. International Journal of Antimicrobial Agents. 16: 473-478, 2000.
20. Chambers HF: Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. Clinical Microbiology Reviews. 10(4): 781-791, 1997.
21. Ünal S, Vahaboğlu H: Bakteriyel Direnç Sorunu. Wyeth.
22. Ünal S: Stafilokoklarda metisilin direnç mekanizmaları ve metisilin direnç tespit yöntemleri. Flora. 1(1): 14-17, 1996.
23. Arıkan S: Temizlik, dezenfeksiyon ve sterilizasyon. Hastane İnfeksiyonları Dergisi. 1: 61-68, 1997.
24. Shimaoka M, Yoh M, Segawa A, Katarakada Y, Yamamoto K, Honda T: Development of Enzyme-Labeled Oligonucleotide Probe for Detection of *MecA* gene in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Journal Of Clinical Microbiology. 32(8): 1866-1869, 1994.

25. Hasçelik G: Cerrahi alan infeksiyonlarının etyoloji, epidemiyoloji ve laboratuvar tanısı. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*. 3: 225-230, 1999.
26. Eraksoy H: *Staphylococcus aureus*'a bağlı hastane infeksiyonlarının kontrolü. *Galenos*. 23: 11-14, 1998.
27. Arslan H, Gürdoğan K: Yoğun bakım ünitelerinde gözlenen hastane infeksiyonları. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*. 3(3): 165-170, 1999.
28. Wilke A: Hastane infeksiyonları ve sürveyansın önemi. *Flora*. 3(1): 11-15, 1998.
29. Hoşoğlu S: Yüksek riskli hastalar için hastane ortamı. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*. 3: 184-188, 1999.
30. Usluer G: Hastane personeline infeksiyon kontrol eğitiminin değerlendirilmesi. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*. 3: 240-243, 1999.
31. Karabey S: Bir yoğun bakım ünitesinde ayrıntılı mikrobiyolojik inceleme sonuçları ışığında el yıkama sıklığının irdelenmesi. *Ankem Dergisi*. 15(1): 114-123, 2001.
32. Wichelhaus TA, Kern S, Schafer V, Brade V: Rapid detection of epidemic strains of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*. 37(3): 690-693, 1999.
33. Leski TA, Gniadkowski M, Skoczynska A, Stefaniuk E, Trzcinski K, Hryniewicz W: Outbreak of Mupirocin-Resistant Staphylococci in a hospital in Warsaw, Poland, due to plasmid transmission and clonal spread of several strains. *Journal of Clinical Microbiology*. 37(9): 2781-2788, 1999.
34. Givney R, Vickery A, Holliday A, Pegler M, Benn R: Evolution of an endemic Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* population in an Australian Hospital from 1967 to 1996. *Journal of Clinical Microbiology*. 36(2): 552-556, 1998.
35. Melter O, Sanches IS, Schindler J, et al.: Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* clonal types in the Czech Republic. *Journal of Clinical Microbiology*. 37(9): 2798-2803, 1999.

36. Schlichting C, Branger C, Fournier JM et al.: Typing of *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis, zymotyping, capsular typing, and phage typing: resolution of clonal relationships. *Journal of Clinical Microbiology*. 31(2): 227-232, 1993.
37. Kocagöz S: Ribotiplendirme, plazmit profili ve pulsed-field jel elektroforezi (PFGE) ile restriksiyon enzim analizi. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 34:135-140, 2000.
38. Şener B: "Arbitrarily primed" PCR (AP-PCR) ve "sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis" (SDS-PAGE) protein profilleri. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 34:141-144, 2000.
39. Erkmen O: Gaziantep Tıp Fakültesi Hastanesi'nde hasta, personel ve çevre örneklerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının bakteriyofaj tiplendirmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 34: 293-301, 2000.
40. Çalangu S: Hastane infeksiyonlarında antimikrobiyal tedavi ilkeleri. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*. 3: 126-132, 1999.
41. Galdbart JO, Morvan A, Solh NE: Phenotyping and molecular typing of nosocomial Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* strains susceptible to gentamicin isolated in France from 1995 to 1997. *Journal of Clinical Microbiology*. 38(1): 185-190, 2000.
42. Saçılık SC, Osmanağaoğlu Ö, Çökmüş C: Nazal taşıyıcılardan izole edilen *S. aureus* suşlarının toplam hücre ve filtrat protein profillerine göre elektroforetik ayırımı, antibiyotik duyarlılıkları ve plasmid içeriklerinin analizi. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 33:171-178, 1999.
43. Çetinkaya Y, Kocagöz S, Hayran M, et al: Analysis mini-outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a surgical ward by using arbitrarily primed-polymerase chain reaction. *J Chemother*. 12(2): 138-144, 2000.
44. Canadian Paediatric Society (CPS): Control of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Canadian Paediatric Institutions is still a worthwhile goal. *Pediatrics and Child Health*. 4(5):337-341. 1999.
45. Herwaldt LA: Control of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in the hospital setting. *The American Journal of Medicine*. 106: 11S- 18S, 1999.

46. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved Standard M2-A4, Villanova Pa, NCCLS, 1991.
47. Ünal S, Hoskins J, Flokowitsch JE et al.: Detection of Methicillin-Resistant Staphylococci by using the polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*. 30(7): 1685-1691, 1992.
48. Ausubel, F. M., Brient, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Seidman, J. G., Smith, J. A., and Struhl, K.: *Short Protocols in Molecular Biology*. 2 nd ed. John Willey & Sons., New York ,1995.
49. Değerli K, Özbakkaloğlu B, Sürücüoğlu S, Sezgin C, Kurutepe S: Klinik örneklerden soyutlanan *Staphylococcus aureus* suşlarının çeşitli antimikrobiklere duyarlılıkları. *Turkish Journal of Infection*,14 (1):87-90, 2000.
50. Panillio AL, Culver DH, Gaynes RP, et al: MRSA in US hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 13: 582-6, 1991.
51. Aygen B.: Nozokomiyal stafilokok bakteriyemileri. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*. 2: 210-216, 1998.
52. Yorgancıgil B, Demirci M, Demir İ, Arda M: Metisiline Dirençli *S. aureus* kökenlerinin değişik antibiyotiklere dirençleri. *İnfeksiyon Dergisi*. 13(4): 501-505, 1999.
53. Sancak B.: Vankomisin dirençli *S. aureus*. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 33: 363-368, 1999.
54. Haşçelik G.: Cerrahi alan infeksiyonlarının etyoloji, epidemiyoloji ve laboratuvar tanısı. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*. 3: 225-230, 1999.
55. Kahraman H: Yüksek riskli hastane bölümlerinde infeksiyon. *Klinik Derg*. 6: 111-20, 1993.
56. Çetin BÇ, Yalçın AN, Turgut H, Kaleli İ, Orhan N: Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde hastane infeksiyonları. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, 3(3):161-164, 1999.
57. Çaylan R.: Hastanemizde nozokomiyal stafilokok enfeksiyonlarında metisilin direncinin saptanması ve personelde metisilin dirençli stafilokok taşıyıcılığı. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 33:163-170, 1999.

58. Bartzokas CA, Paton JH, Gibson MF, et al: Control and eradication of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on a surgical unit. N Engl J Med, 311: 1422-5, 1984.
59. Coello R, Jimenez J, Garcia M, et al: Prospective study of infection, colonization and carriage of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an outbreak affecting 990 patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 13: 74-81, 1994.
60. Tayşi BN, Fidan I, Türet S: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *S. aureus* suşlarında metisilin ve siprofloksasin direnç durumunun araştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni. 32: 107-115, 1998.
61. Williams D, Bergan T, Moosden F: Arrival of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. Antibio Chemother. 1:1, 1997.
62. Kaleli İ, Şengül M, Özen N, Akşit F: *Staphylococcus aureus* Suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılığı. Turkish Journal of Infection. 12 (3): 351-354, 1998.
63. Arkan S, Tunçkanat F, Özalp M, Günalp A: *Staphylococcus aureus* suşlarında bazı makrolid antibiyotiklere ve trimetoprim-sülfametaksazole duyarlılığın metisilin direnciyle karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi. Mikrobiyoloji Bülteni, 29(4): 333-337, 1995.
64. Birengel S, Kurt H, Boşça A, Balık İ, Tekeli E: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilokokların metisilin direncine göre çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları. İnfeksiyon Dergisi, 4: 303-6, 1992.
65. Akova M: Beta-laktam/ beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonu antibiyotikler. Akalın HE, ed. Klinik Uygulamada Antibiyotikler ve Diğer Antimikrobiyal İlaçlarda. Ankara: Güneş Kitabevi, 1994; 144-53.
66. Yorgancıgil B, Demirci M, Demir İ, Arda M: Metisiline dirençli *S.aureus* kökenlerinin değişik antibiyotiklere dirençleri. İnfeksiyon Dergisi, 13(4): 501-503, 1999.
67. Ulusoy S, Çetin B, Arda B, Özkan F, Tünger A, Tokbaş A: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* kökenlerinin antibiyotik direnci. Turkish Journal of Infection, 9: 7-10, 1995.
68. Kaleli İ, Şengül M, Özen N, Akşit F: *Staphylococcus aureus* suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılığı. Turkish Journal of Infection, 12 (3): 351-354, 1998.

69. Saltoğlu N, Taşova Y, Yaman A ve ark: Çeşitli klinik materyallerden izole edilen stafilokoklarda antibiyotik duyarlılıkları. Klimik Dergisi, 9: 31-3, 1996.
70. Sultan N, Türet S, İmir T: Metisiline dirençli Stafilokokların antibiyotik direçliliklerinin incelenmesi. Mikrobiyoloji Bülteni, 25: 227-234, 1991.
71. avuşoğlu C, Hilmioğlu S, Dibek MA, Afşar İ: Kan kültürlerinden soyutlanan *S. aureus* kökenlerinin in vitro antibiyotik duyarlılıkları. İnfeksiyon Dergisi. 13(4): 497-500, 1999.
72. İnan M, Özgenç O, Oran E, Sancaktaroğlu İ: Koagulaz pozitif ve koagulaz negatif stafilokokların invitro antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. İnfeksiyon Dergisi. 4: 303-306, 1992.
73. Maple PAC, Hamilton-Miller JMT, Brumfitt W: World-wide antibiotic resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet, 11: 537, 1989.
74. Blumberg LH, Klugman KP: Control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteriamia in high-risk areas. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 13: 50-5, 1994.
75. Tülek N, Keskin Y, Mert A: *Staphylococcus aureus* suşlarında çoğul antibiyotik direnci. İnfeksiyon Dergisi. 13(2): 199-202, 1999.
76. Güneri S: Gram-pozitif koklarda antimikrobiyal direncin yol açtığı yeni problemler. İnfeksiyon Dergisi. 12(2): 271-276, 1998.
77. Töreci K, Gürler N, Çalangu S, Sarpel C, Eraksoy H, Özsüt H: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in Istanbul. Ankem Dergisi. 2: 265-271, 1988.
78. Fidan I, Akyar I, Türet S, Rota S: Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında metisilin direncinin üç ayrı yöntemle saptanması ve metisiline dirençli suşların in vitro mupirosin duyarlılığının araştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni. 31(4): 345-350, 1997.
79. Kocagöz S, etinkaya Y, Uzun Ö, Akova M, Haşelik G, Ünal S: Hastane infeksiyonlarından izole edilmiş stafilokok ve enterokok suşlarının çeşitli antibiyotiklere in vitro duyarlılıkları. Flora. 2(4): 284-287, 1997.

80. Erkmen O, Güngör S: Clinical and bacteriological study of nosocomial infections due to Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *İnfeksiyon Dergisi*. 10: 143-147, 1996.
81. Leblebicioğlu H, Günaydın M, Savran F: Beta laktamaz pozitif ve negatif *Staphylococcus aureus* suşlarının kinolon grubu antibiyotiklere duyarlılıkları. *Ankem Dergisi*. 6: 141, 1992.
82. Zarakolu P, Güvener E: Toplum kaynaklı metisiline duyarlı ve dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının kinolon duyarlılıklarının in vitro değerlendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 29:117-22, 1995.
83. Gürler N, Kaygusuz A, Karayay S, Töreci K: Methicillin-resistant Staphylococci isolated from pus since 1992 and aminoglycoside and quinolone resistance in these strains. *Ankem Dergisi*. 11: 9-13, 1997.
84. Kinolonlar. Topçu-Wilke A, Söyletir G, Doğanay M, ed. *İnfeksiyon Hastalıklarında*. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevi, 1996: 170-180.
85. Sancak B, Günalp A: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* izolatlarının mupirosin ve diğer antibiyotiklere olan duyarlılıkları. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 34(3): 209-213, 2000.
86. Kısa Ö, Başustaoğlu A, Özyurt M, Haznedaroğlu T: Metisiline dirençli *S. aureus*'ların arbitrarily primed PCR ve plazmid profil analizi ile değerlendirilmesi. 9. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Antalya, 3-8 Ekim 1999.
87. Fang FC, McClelland, Guiney DG et al.: Value of molecular epidemiologic analysis in a nosocomial Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* out break. *JAMA*. 270 (11): 1323-8, 1993.

EK-1:

**LABORATUARDA İZOLE EDİLMİŞ OLAN
METİSİLİN RESİSTAN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
SUŞLARI İLE İLGİLİ BİLGİ FORMU**

KÜLTÜR NO:

| | |
|--|---|
| Hastanın adı soyadı | : |
| Dosya No | : |
| Yaşı ve Cinsiyeti | : |
| Yattığı Servis | : |
| Yatış Tarihi | : |
| Primer Hastalık | : |
| Yapılan İnvaziv Girişimler | : |
| Kültür alınmadan önce Antibiyotik Kullanımı | : |
| Kaç Gündür Antibiyotik Kullanıyor? | : |
| Kültür alınan Tarih | : |
| Kültürün alındığı yer | : |
| KÜLTÜR SONUCU | : |

ANTİBİYOGRAM SONUÇLARI:

| | |
|--------------------------------|-------------------------------------|
| Beta laktamaz: | Eritromisin: |
| Amoksisilin/Klavulonat: | İmipenem: |
| Ampisilin: | Penisilin: |
| Ampisilin/Sulbaktam: | Trimetoprim/Sulfometaksazol: |
| Sefazolin: | Rifampisin: |
| Sefalotin: | Tetrasiklin: |
| Seftriakson: | Vankomisin: |
| Sefuroksim: | Oksasilin: |
| Kloramfenikol: | Metisilin: |
| Siprofloksasin: | Netilmisin: |
| Norfloksasin: | Sefepim: |
| Klindamisin | Gentamisin: |
