

Sigara İçiminin Nazofarinks'de Potansiyel Patojenlerin Taşıyıcılığına Etkisi

The Effect of Smoking on the Carriage of Potential Pathogens in Nasopharynx

Gülay Yetkin

Asist. Prof., M.D.
Department of Microbiology
Faculty of Medicine, İnönü University
gyetkin@inonu.edu.tr

Selma Ay

Assoc. Prof., Ph.D.
Department of Microbiology
Faculty of Medicine, İnönü University

Özkan Yetkin

Asist. Prof., M.D.
Department of Chest Disease
Faculty of Medicine, İnönü University
ozkanyetkin@hotmail.com

Neşe Taştekin

Ph.D.
Department of Microbiology
Faculty of Medicine, İnönü University

Nilay Güçlüer

Ph.D.
Department of Microbiology
Faculty of Medicine, İnönü University
nilaygucluer@yahoo.com

Submitted : June 11, 2008
Revised : March 03, 2009
Accepted : Decemebr 07, 2009

Corresponding Author:

Yard. Doç. Dr. Gülay Yetkin
Department of Microbiology
Faculty of Medicine, İnönü University
Malatya - Turkey

Telephone : +90- 422 3410660
E- mail : gyetkin@inonu.edu.tr

Özet

Amaç: Sigara içiminin solunum yolu enfeksiyonu sıklığını ve bazı potansiyel patojen mikroorganizmaların ağızda kolonizasyonunu artırdığı bilinmektedir. Sigara içiciliği veya sigara dumanına maruz kalmak potansiyel patojen bakterilerin orofaringeal muköz membrana yapışma özelliğini arttırmaktadır. Bu çalışmanın amacı aktif sigara içiminin nazofarinkste potansiyel patojen bakterilerin taşıyıcılığına ve aerob floraya etkisini araştırmaktır. Potansiyel patojen bakteriler olarak *Haemophilus İnfluenza*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans* araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Hastanenin çeşitli servislerinden 77 hastane personeli sağlıklı yetişkin üzerinde çalışıldı. Nazofarinks kültürleri steril pamuklu eküvyon ile ağızdan girilerek nasofarinksden alındı. Sigara içenler hafif (n: 29; 0-10 paket/yıl), orta (n: 16; 11-20paket/yıl) ve ağır içici (n: 12; 25 ve üstü paket/yıl) olarak sınıflandırıldı. Kültürler semikantitatif (roll plate,yuvarlama) ekildi ve değerlendirildi.

Bulgular: Üç örnekte *Staphylococcus aureus*, 1 örnekte *Neisseria meningitidis*, 1 örnekte *Acinetobacter lwoffii*, 1 örnekte *E.coli*, 12 örnekte her plak alanında yoğun maya (*Candida albicans*), 8 örnekte her plak alanında az sayıda maya (*Candida albicans* ve *Candida spp.*), 1 örnekte *Haemophilus aphrophilus* ve 1 örnekte A grubu β hemolitik streptokok üredi. Elli yedi gönüllü (%75) sigara içiyordu. Sigara içenlerin 24'ünde (%42), sigara içmeyenlerin 4'ünde (%20) patojen bakteri izole edildi (p<0.05). Hafif içiciler grubunda 6 patojen (%20), orta içiciler grubunda 8 patojen (%50) ve ağır içiciler grubunda 10 patojen (%83) bakteri izole edildi (p<0.05). Her üç gruptaki üreme oranları anlamlı olarak arttı; potansiyel bakteri üreme oranı sigara içme oranındaki artışla paralel olarak %20 den %83'e çıktı.

Sonuç: Sigara içimi ağızda potansiyel patojen kolonizasyonunu arttırmıştır.

Anahtar kelimeler: **Nasofarinks; Sigara içimi.**

Abstract

Purpose: Smoking is associated with an increased risk of respiratory tract infections in adults and also with oral colonization by some potentially pathogenic microorganisms. Smoking or passive exposure is enhancing bacterial adherence of pathogenic bacteria to the epithelial cells of the oropharyngeal mucous membrane. The aim of this study is to determine the effect of active smoking on colonization of potential aerobic pathogens and in the nasopharynx. We evaluated *Haemophilus İnfluenza*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* strains.

Material and Methods: Study population; 77 healthy hospital personnel has been selected from several services. Cultures were obtained using sterile swabs. Specimens collected from the nasopharynx through the mouth. Smokers were classified three groups as: mild smokers (n: 29; 0-10 package/year), moderate (n: 16; 11-20 package/year) and heavy (n: 12; 25+ package/year). Cultures were evaluated with semiquantitative technics (roll plate)

Results: We isolated *Staphylococcus aureus* from 3 specimens, *Neisseria meningitidis* 1, *Acinetobacter lwoffii* 1, *E.coli* 1, intense *Candida albicans* from 12 specimens, a few mold (*Candida albicans* ve *Candida spp.*) from 8 specimens, *Haemophilus aphrophilus* 1 and Group A β haemolytic streptococcus from 1 specimen. We have isolated pathogenic bacteria from 24 of 57 (%42) smokers and 4 of 20 (%20) nonsmokers (p<0.05).

Conclusion: Distribution of pathogens in three groups described in smokers as follows; mild smokers (6 pathogen/29 person) (6 pathogen) (%20), moderate (8 pathogen/16 person) (8 pathogen) (%50), and heavy smokers (10 pathogen/12 person) (10 pathogen) (%83) (p<0.05). All growth rates within these groups have risen up in comparison with nonsmokers.

Key words: **Cigarette Smoking; Nasopharynx.**

Giriş

Sigara içiminin solunum yolu enfeksiyonu sıklığını ve bazı potansiyel patojen mikroorganizmaların ağızda kolonizasyonunu artırdığı bilinmektedir (1, 2, 3). Özellikle çocuklarda sigaraya maruz kalmak solunum yolu enfeksiyonu ve menengokok menenjiti yönünden risk faktörüdür (4). Aktif ve pasif sigara içiciliği potansiyel patojen bazı bakterilerin epitele bağlanmalarını kolaylaştırmaktadır (5). Bakterinin epitele yapışma kabiliyeti orofarinks muköz membranında kolonizasyon için önemli bir özelliktir ve mikroorganizmanın ortadan kaldırılmasını engeller, büyüme ve gelişmesini sağlar (6). Bu çalışmanın amacı aktif sigara içiminin nazofarinkste potansiyel patojen bakterilerin taşıyıcılığına ve aerob floraya etkisini araştırmaktır. Potansiyel patojen bakteriler olarak *Haemophilus İnfluenza*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans* araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Hastanenin çeşitli servislerinden 77 hastane personeli sağlıklı yetişkin üzerinde çalışıldı. Çalışmaya, herhangi akut ya da kronik rahatsızlık tanımlamayan, son 3 ay içinde herhangi bir antibiyotik almamış ve solunum sistemi hastalığı geçirmemiş kişiler alındı. Kişilerin yaşları 18-62 arasında değişmekte olup 57 si erkek 20 si kadındır. Çalışma Mayıs-Ağustos 2006 tarihleri arasında yapıldı. Nazofarinks kültürleri steril pamuklu eküvyon ile ağızdan girilerek nazofarinksten alındı. Eküvyonlar bekletilmeden koyun kanlı (%5), EMB, çukulata, MRSA-ID agar (BioMerieux, France) ve saboraud dextrose agara (SDA) ekildi. Plaklar aerobik ortamda 37°C'de (EMB, MRSA-ID, SDA) 24 saat ve % 5 karbondioksitli ortamda (kanlı ve çukulata agar) 48 saat inkübe edildi. Kültürler semikantitatif (roll plate, yuvarlama) ekildi ve değerlendirildi. Tüm şüpheli üremelerden Gram boyama yapıldı. Üremelerden görülen tüm şüpheli kolonilerden pasaj alındı ve şüphelenilen tüm bakteriler manuel ve otomatize identifikasyon kitleriyle ve konvansiyonel yöntemlerle adlandırıldı. (api Coryne, api NH, api NE, api 20NE, api 20 Strep Biomerieux France, Phoenix 100 (BD)). Patojen bakteriler ikişer kez doğrulandı. Kişilerin içtikleri sigara miktarına göre ne kadar ağır içici oldukları, günlük içtikleri paket sayısı ile içtikleri yıl sayısının çarpımı sonucu paket.yıl olarak ifade edilmiştir. Sigara içenler hafif (1-10 paket.yıl), orta (11-20paket.yıl) ve ağır içici (20 ve üstü paket.yıl) olarak sınıflandırıldı (7).

İstatistiksel analiz. Çalışmada kategorik değişkenler yüzde olarak, sürekli değişkenler ortalama±standart sapma olarak verildi. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki-kare testi, sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında eşleştirilmemiş t testi kullanıldı. 0,05'den küçük p değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nin çeşitli servislerinden 77 hastane personeli sağlıklı yetişkinden alınan 77 nazofarinks kültürü ile çalışıldı. Gönüllülerin 20'si (%25) sigara içmemekte, 57'si (%75) içmektedir. Yine 20'si (%25) kadın 57'si (%75) erkek olan örneklem grubunda kadınların yaş ortalaması 29,1, erkeklerin yaş ortalaması 32,5'tir. Erkeklerde sigara içenlerin oranı %76, kadınlarda içenlerin oranı %60'dır. Sigara içen kişiler ortalama günde 1,1 paket sigara içmektedirler. Kadınlardan sigara içenler ortalama günde 0,6 paket, erkeklerden sigara içenler ortalama günde 1,2 paket sigara içmektedirler.

Yetmiş yedi kültürden toplam 29 patojen (Sadece 1 örnekten 2 patojen; E.coli ve az yoğun kandida) izole edildi (%37). Normal flora bakterisi olarak izole edilen mikroorganizmalar Tablo I'de özetlenmiştir.

Tablo I. Normal flora (aerob) bakterisi olarak izole edilen bakteriler

Brevibacterium spp.
Brevibacillus brevis
Brevundimonas vesicularis
Corynebacterium jeikeium
Haemophilus aphrophilus
Koagülaz negatif stafilokok
Leuconostoc spp
Lactis cremoris
Moraxella spp
Neisseria cinerea
Neisseria lactamica
Neisseria spp
Streptococcus mitis
Streptococcus equinus
Streptococcus mitis
Streptococcus salivarius
Streptococcus anginosus
Streptococcus sanguis
Streptococcus oralis

Dört örnekte *Staphylococcus aureus*, 1 örnekte *Neisseria meningitidis*, 1 örnekte *Acinetobacter lwoffii*, 1 örnekte *E.coli*, 12 örnekte her plak alanında yoğun maya (*Candida albicans*), 9 örnekte her plak alanında az sayıda maya (*Candida albicans* ve *Candida spp.*) ve 1 örnekte A grubu β hemolitik streptokok üredi (Tablo II). *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus İnfluenza* ve *Streptococcus pneumoniae*; örneklerde izole edilmedi. Üreyen potansiyel patojenler ve üredikleri kişinin sigara içme durumları Tablo II'de özetlenmiştir. Bir örnekte hem *E.coli* hem kandida birlikte izole edildi. Patojen üreme oranı tüm örnekler dikkate alındığında %37 olarak bulundu. Sigara içen 57 kişiden 25'inde (%43), sigara içmeyen 20 kişinin 4'ünde (%20) patojen bakteri izole edildi ($p<0,05$). En çok izole edilen potansiyel patojen kandidadır (21 örnek).

Bu 21 izolatan sadece 1 tanesi sigara içmeyen örnekten 20 tanesi ise sigara içen örneklerden izole edilmiştir ($p<0,05$). Yirmi bir kandida üreyen plağın 12'sinde üreme her plak alanında olmak üzere yoğun ve bu sigara içicilerinin sigara içme ortalaması 24 yıl günde 1,6 paketti. Sekiz plakta üreme sadece ilk alanda (az yoğun) vardı ve bu kişilerin sigara içme ortalaması 10 yıl güne 1 paketti. Bu iki grup arasında içilen sigara miktarı yönünden istatistiksel farklılık bulunmadı. Sigara içmeyenlerde üretilen 4 potansiyel patojen *Streptococcus pyogenes* (1 suş), *Staphylococcus aureus* (2 suş) ve *Candida albicans* (1suş) idi. Üreyen patojenlerin üç gruba dağılımı; hafif içiciler (6 patojen/29 kişi) (%20), orta içiciler (8 patojen/13 kişi) (%61), ağır içiciler (10 patojen/12 kişi) (%83) şeklinde idi ($p<0,05$; Tablo III).

Tablo II. İzole edilen potansiyel patojen bakteriler ve kişilerin sigara içme durumlarına göre dağılımları.

Potansiyel patojen	Sigara içme durumu (paket.yıl)	Sigara içen gönüllü sayısı	Sigara içmeyen gönüllü sayısı
A grubu β hemolitik streptokok	İçmiyor	1	-
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	3 (hafif içici)	20*	1
<i>Candida albicans</i>	Az 10 (hafif içici)	8	-
	Az içmiyor	1	-
	Bol 38.4 (ağır içici)	12	-
<i>E.coli</i>	52.5 (ağır içici)	1	-
<i>Neisseria meningitidis</i>	15 (orta içici)	1	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	İçmiyor	-	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	15 (orta içici)	1	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 (hafif içici)	1	-
<i>Haemophilus İnfluenza</i>		-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>		-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>		-	1
Toplam		25*	4

Sigara içmeyen gönüllülerden $p<0,05$ düzeyinde anlamlı farklılık vardır. Fisher exact t testi

Tablo III. Üreyen patojenlerin sigara içme durumlarına göre dağılımı

	Hafif İçiciler	Orta İçiciler	Ağır İçiciler
n	29	16	12
Üreyen Patojen	6*	8	10
Oran (%)	20	50	83

*: Hafif içicilerde orta ve ağır içicilerden $p<0,05$ düzeyinde anlamlı farklılık. Ki-kare testi.

Tartışma

Oral floraya anaeroblar hakimdir (8). Bu nedenle, etken izolasyonu, tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi zordur (9). Boğaz florasında hemoliz yapmayan streptokoklar, neisserialar, stafilokoklar ve difteroidler yer alır. Trakea florası, boğaz florasına benzerlik gösterir. Bu çalışmada nazofaringeal flora sadece aerob potansiyel patojenler yönünden incelendi.

Nazofarinksin potansiyel solunum yolu patojenleri (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*), ile kolonizasyonu çoğu zaman sadece taşıyıcılıkla sonuçlanmakla birlikte taşıyıcının genel durumundaki değişikliklere bağlı olarak hastalıklara yol açabilmektedir (10). Bununla birlikte üst solunum yollarında taşınan patojen bakteriler insandan insana bulaşabilmektedir (11). *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* ve *Moraxella catarrhalis*, ortakulak iltihabı, maksiller sinüzit ve bronşit gibi enfeksiyonların en önemli nedenidir. Sigara içmek veya pasif olarak sigara dumanına maruz kalmak potansiyel patojen bakterilerin nazofaringeal taşıyıcılığını artırmakta ve invaziv *Streptococcus pneumoniae* enfeksiyonuna yol açmaktadır (12). *Haemophilus influenzae* ve *Streptococcus pneumoniae* taşıyıcılığının sigara dumanına maruz kalanlarda fazla olduğunu gösteren yayınlar olmakla birlikte (13) biz sigara içenlerde veya içmeyenlerde taşıyıcılık tespit etmedik. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı olanlarda potansiyel patojenlerin orofaringeal taşıyıcılığının arttığı gösterilmiştir (14). Tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonu olan hastalarla yapılan bir çalışmada *Haemophilus influenzae* %14, *Moraxella catarrhalis* %38, *Streptococcus pneumoniae* %23 oranında izole edilmiştir (15). Bizim çalışmamızda kişilerin herhangi akut ya da kronik rahatsızlığı olmayan sağlıklı popülasyondan seçilmesi nedeniyle bu üç patojenin tesbit edilemediğini düşünüyoruz. *Candida spp.* normalde insan florasında bulunan bir mikroorganizma olmakla birlikte son yıllarda vajina, nazofarinks epiteli ve vasküler endotele yapışma özelliğinin belirgin olduğu gösterilmiştir (16). Bu yapışma kabiliyeti bakterilerde olduğu gibi muhtemelen kolonizasyonda önemli rol oynamaktadır (17). Öte yandan kandida türlerinin ve gram negatif bakterilerin oral florada hakimiyetinin hastanın immünitesinde bir bozukluk olduğu taktirde özellikle geç başlangıçlı hastane enfeksiyonlarına yol açabileceği bildirilmiştir (18, 19).

Biz çalışmamızda 12 örnekte her plak alanında yoğun maya (*Candida albicans*), 8 örnekte her plak alanında az sayıda maya (*Candida albicans* ve *Candida spp.*)

izole ettik. En çok izole edilen potansiyel patojen kandidadır. (21 örnek). Bu 21 izolatın sadece 1 tanesi sigara içmeyen örnekten 20 tanesi ise sigara içen örneklerden izole edilmiştir. ($p<0.05$) Bu sonuca göre orofaringeal maya kolonizasyonun sigara içmeyle doğru orantılı olarak arttığı sonucuna vardık. Çalışmamızda bir örnekte *Acinetobacter lwoffii*, 1 örnekte *E.coli* üremiştir. Örnekler sırasıyla hafif ve ağır içici sınıfındadır. Sigara içmeyen popülasyonda gram negatif bakteri tesbit edilmemiştir. Sigara içmeyen örnekten bir tanesinde β hemolitik streptokok izole edilmiştir. *Staphylococcus aureus* sigara içen grupta 2 sigara içmeyen grupta 2 örnekte izole edilmiştir. Sigara içen 2 örnek hafif ve orta içici grubundadır. *Staphylococcus aureus* insanda bilinen en önemli patojenlerden biridir. Hastane ve nazokomiyal enfeksiyonların en sık sebeplerinden biridir. Genellikle burunda kolonize olur. Bu hastanın burnunda da çok muhtemel kolonize olduğunu tahmin ediyoruz. Yapılan bir çalışmada *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığıyla sigara içme arasında bağlantı olmadığı gösterilmiştir (20). Bizim çalışmamızda da sigara içenlerde taşıyıcılık yönünden bir fark bulunmamıştır. Bir örnekte *Neisseria meningitidis* tesbit edilmiştir. Örnek orta içici grubundadır. Meningokok hastalıklarıyla aktif sigara içiciliği arasında direkt bir bağlantı olmamakla birlikte nazofarinksten *Neisseria meningitidis* izolasyonu sigara içenlerde özellikle ağır içicilerde fazla bulunmuştur (2, 3). Az sayıda tesbit edilen bu patojenlerin sigara içme yönünden istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmesinin örneklem hacminin genişletilmesiyle mümkün olacağını düşünüyoruz.

Sonuç olarak sigara içenlerde sigara içmeyenlere göre, izole edilen patojen sayısı anlamlı olarak farklıdır(25/4); ağır ve orta içicilerde patojen izolasyon oranı (%83,%50) hafif içicilere göre(%20) yine anlamlı olarak farklı bulunmuştur.

Kaynaklar

1. Musher DM, Fainstein V. Adherence of *Staphylococcus aureus* to pharyngeal cells from normal subjects, smokers, staphylococcal carriers and patients with viral infections. In: Victor Fainstein, Daniel M. Musher, editors. *Staphylococci and staphylococcal infections*. New York: Gustav Fischer Verlag. 1981 p.1011-1116.
2. Blackwell CC, Weir DM, James VS, et al. Secretor status, smoking and carriage of *Neisseria meningitidis*. *Epidemiol Infect* 1990; 104:203–209.
3. Blackwell CC, Tzanakaki G, Kremastinou J. Factors affecting carriage of *Neisseria meningitidis* among Greek military recruits. *Epidemiol Infect* 1992; 108:441–448.
4. Stuart JM, Cartwright KAV, Dawson JA, Rickard J, Noah ND. Risk factors for meningococcal disease: a case control study in south west England. *Commun Med* 1988; 2:139–146.
5. El Ahmer OR, Essery SD, Saadi AT, et al. The effect of cigarette smoke on adherence of respiratory pathogens to buccal epithelial cells. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999; 1 23:27–36.
6. Beachey EH, Giampapa CS, Abraham SN. Bacterial adherence: receptor-mediated adhesion of pathogenic bacteria to mucosal surfaces. *Am Rev Resp Dis* 1988; 138 (6 pt 2):45-48.
7. Solak ZA, Kabaroğlu C, Cok G, et al. Effect of different levels of cigarette smoking on lipid peroxidation, glutathione enzymes and paraoxonase 1 activity in healthy people. *Clin Exp Med* 2005; 5:99-105.
8. İnanç D, İnsanın ağız florasında anaerob potansiyel patojen bakteriler. In: Enver Tali Çetin, Editör. *Anaerob bakteriler ve enfeksiyonları kitabı*, İÜ İst Tıp Fakültesi Yayını No3334/157, İstanbul:1986 p.93
9. Külekçi G. Ağız Mikrobiyolojisinde Moleküler Biyoloji Teknikleri. In: Ali Ağaçfidan, Selim Badur, Salih Türkoğlu, editörler. *İnfeksiyon Hastalıklarının Laboratuvar Tanısında Moleküler Yöntemler*. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları; İstanbul: 2002. p.38-44.
10. Garcia-Rodriguez JA, Fresnadillo Martinez MJ. Dynamics of nasopharyngeal colonization by potential respiratory pathogens. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50 Suppl 2: 59–73.
11. Hendley JO, Sande MA, Stewart PM, Gwaltney JM Jr. Spread of *Streptococcus pneumoniae* in families. Carriage rates and distribution of types. *J Infect Dis* 1975; 132: 55–61.
12. Nuorti JP, Butler JC, Farley MM. Cigarette smoking and invasive pneumococcal disease. Active Bacterial Core Surveillance Team. *N Engl J Med* 2000; 342:681–689.
13. Greenberg D, Givon-Lavi N, Broides A, Blancovich I, Peled N, Dagan R. The contribution of smoking and exposure to tobacco smoke to *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* carriage in children and their mothers. *Clin Infect Dis* 2006; 42:897–903.
14. Patel IS, Seemungal TA, Wilks M, Lloyd-Owen SJ, Donaldson GC, Wedzicha JA. Relationship between bacterial colonisation and the frequency, character, and severity of COPD exacerbations. *Thorax* 2002; 57:759–764.
15. Mbaki N, Rikitomi N, Akiyama M, Matsumoto K. In Vitro adherence of *Streptococcus Pneumoniae* to oropharyngeal cells: enhanced activity and colonization of the upper respiratory tract in patients with recurrent respiratory infections. *Tohoku J Exp Med* 1989; 157: 345-354.
16. Douglas LJ. Adhesion to surfaces. In: Rose AH, Harrison JS, editors. *The Yeasts*, 2nd edition. Academic Press; London: 1987. p. 239-280.
17. Golin V, Mimica IM, Mimica LM. Oropharynx microbiota among alcoholics and non-alcoholics. *Sao Paulo Med J* 1998; 116:1727-1733.
18. Walmsley S, Devi S, King S, Schneider R, Richardson S, Ford-Jones L. Invasive Aspergillosis infections in a pediatric hospital: a ten-year review. *Pediatr Infect Dis J* 1993; 12:673-682.

19. George DL, Falk PS, Wunderink RG, et al. Epidemiology of ventilatoracquired pneumonia based on protected bronchoscopic sampling. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:1839-1847.

20. Choi CS, Yin CS, Bakar AA, et al. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* among healthy adults. *J Microbiol Immunol Infect* 2006; 39:458-464.