

STAPHYLOCOCCUS TÜRLERİNDE METİSİLİN DİRENCİNİN FARKLI YÖNTEMLERLE SAPTANMASI

DETECTION OF METHICILLIN RESISTANCE IN STAPHYLOCOCCUS SPECIES WITH DIFFERENT METHODS

Emine SEVGİCAN¹, Melda SINIRTAŞ², Cüneyt ÖZAKIN², Suna GEDİKOĞLU²

¹ Dr. Hulusi Alataş Elmadağ Devlet Hastanesi, Elmadağ, Ankara

² Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa

Anahtar Sözcükler: *Staphylococcus* türleri, metisilin direnci, mec A, sefoksitin

Keywords: *Staphylococcus* species, methicillin resistance, mec A, cefoxitin

Geliş: 22 Ocak 2009

Kabul: 27 Mart 2009

ÖZET

Metisiline dirençli stafilokoklar, giderek artan sıklıkta ciddi nozokomiyal ve toplum kökenli infeksiyonlara neden olmaktadır. Antistafilokokal beta-laktam antibiyotiklere fenotipik heterojen ilaç direnci, duyarlılık testlerinin sonuçlarını etkilemekte; rutin oksasilin disk difüzyon testleri, metisiline dirençli stafilokoklarda heterojen direnci belirlemede yetersiz kalabilmektedir. Bu çalışmada Phoenix bakteri tanı ve antibiyogram sisteminde (BD) metisiline dirençli olarak saptanan 100 *Staphylococcus aureus* ve 100 koagülaz negatif stafilokok (KNS) klinik izolatu çalışmaya alındı. Metisilin direncini tarama amacıyla; disk difüzyon yönteminde oksasilin (1 µg), sefoksitin (30 µg) diskleri (BD); E-test yöntemi için de oksasilin, sefoksitin E-test stripleri (AB Biodisk Sonia, İsveç) kullanıldı. Farklı yöntemlerin performansları, metisilin direncini sağlayan *mecA* gen pozitifliği ile bir arada irdelendi. Çalışmamızda *S. aureus* suşlarında, oksasilin ve sefoksitin disk difüzyon ve E-test sonuçlarının *mecA* ile uyumlu olduğu saptandı. Koagülaz negatif stafilokok izolatlarında ise sefoksitin E-testi dışındaki testlerinin *mecA* ile uyumlu olduğu görüldü.

SUMMARY

Methicillin-resistant staphylococci lead to serious nosocomial and community-acquired infections in an increasing frequency. Phenotypical heterogeneous drug resistance to antistaphylococcal beta-lactam antibiotics affects the results of susceptibility testing; and routine oxacillin disk diffusion tests often fail to detect heterogeneous methicillin-resistant staphylococcus populations. In the present study, 100 clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and 100 clinical isolates of coagulase-negative staphylococci (CoNS), which were detected to be methicillin-resistant in Phoenix bacterial identification and antibiogram system (BD), were studied. In order to screen methicillin resistance, a disk diffusion method with oxacillin 1 µg and cefoxitin 30 µg (BD) discs; and E-test containing with oxacillin and cefoxitin (AB Biodisk Sonia, Sweden) strips were performed. The performance of the different methods were determined with the positivity of *mecA* gene. It was found that the results of disk diffusion test and E-test for oxacillin and cefoxitin in *S. aureus* isolates were consistent with *mecA* positivity. It was also observed that the results of tests, apart from E-test for cefoxitin, was consistent with *mecA* positivity in CoNS isolates.

GİRİŞ

Staphylococcus çok sayıda tür içeren, deri ve mukoza-larda kolonize olabilen, değişik türleri ile farklı hastalıklar yapan önemli bir bakteri cinsi; *Staphylococcus aureus* ise, çok sayıdaki patojenik faktörü ile çeşitli doku ve

organlarda ciddi infeksiyonlar oluşturabilen en önemli türüdür. *Staphylococcus aureus* dışında kalan koagülaz negatif stafilokok (KNS) türleri ise, geçmişte sadece flora elemanı olarak kabul edilirken; günümüzde özellikle hastane kaynaklı infeksiyon etkenleri arasında yer almakta

Tablo 1. Phoenix sistemi ile fenotipik yöntemlerin uyumu

	Oksasilin						Sefoksitin					
	Disk difüzyon			E-test			Disk difüzyon			E-test		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
<i>S. aureus</i>	97	2	1	97	-	3	98	-	2	97	1	2
KNS	97	-	3	97	-	3	94	-	6	82	6	12

R: Dirençli, S: Duyarlı, KNS: Koagülaz negatif stafilocok

ve önemleri giderek artmaktadır (1). Hastane kaynaklı stafilocok suşları çoklu antibiyotik dirençleri ile tedavi açısından önemli sorunlar oluşturmaktadır (2). *Staphylococcus aureus* son yarım yüzyıl içinde, spektrumunda yer alan hemen tüm antimikrobiyal ajanlara karşı direnç geliştirmiştir. Penisilin yaygın olarak kullanımının ardından kısa sürede penisilin direnci, metisilin kullanımından bir yıl sonra da metisiline karşı direnç tanımlanmıştır (2). Stafilocoklarda metisilin direncinden *Staphyococcal cassette chromosome mec* (SCCmec) adı verilen 21-67 kb bir DNA bölgesinde yer alan *mecA* geni sorumludur (3).

Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) izolatlarının çoklu antibiyotik dirençleri nedeniyle, tedavide yarattıkları sorunlar giderek artmaktadır. Metisilin direnci grup direncini temsil ettiği için, MRSA ve metisilin dirençli *S. epidermidis* (MRSE) izolatlarında tek tedavi seçeneği glikopeptitler olmaktadır. Glikopeptitlerin yaygınlaşan kullanımları, duyarlılığı azalmış suşlar ve enterokoklarda glikopeptit direncini gündeme getirmiştir (1, 4). Hem glikopeptitlerin gereksiz kullanımından kaçınmak hem de hastaya en kısa zamanda en etkili tedaviyi verebilmek için metisilin/ oksasilin duyarlılığının hızlı ve doğru olarak tanımlanması gerekmektedir (1). Oksasilin duyarlılığı, metisilin direncinin belirlenmesinde en yaygın kullanılan fenotipik yöntem olmakla birlikte; son yıllarda sefoksitin de metisilin direncini belirlemede kullanılabileceği bildirilmektedir (5).

Çalışmamızın amacı; stafilocoklarda konvansiyonel yöntemlerle saptanan metisilin direncinin, moleküler yöntemler ile araştırılarak sonuçların karşılaştırılması, metisilin/ oksasilin duyarlılığını saptamak için laboratuvar da kullanılabilecek en uygun yöntemin belirlenmesidir.

GEREÇ VE YÖNTEM

İzolatlar: Çalışmaya; Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarı'na gönderilen kan kültür örneklerinden BACTEC 240 hemokültür sisteminde (Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD) izole edilen; identifikasyon ve antibiyotik duyarlılıkları Phoenix sisteminde (Becton Dickinson, Sparks, MD,

ABD) yapılan 100 tane metisiline dirençli *S. aureus* ve 100 tane KNS suşu alındı. İdentifikasyon işlemleri tamamlanan ve çalışmaya alınan 200 suşun hepsi tek koloni pasaj yapılarak moleküler çalışmada kullanılmak üzere -20° C'da saklandı.

Duyarlılık Testleri: Antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılabilmesi için Mueller Hinton II Agar (BD) besiyerleri kullanıldı. Disk difüzyon testi, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda, oksasilin (1 µg) ve sefoksitin (30 µg) diskleri (BD) kullanılarak yapıldı. E-test yönteminde ise oksasilin ve sefoksitin E-Test stripleri (AB Biodisk Sonia, İsveç) üretici firmanın önerileri doğrultusunda uygulandı. Antibiyotik duyarlılık sonuçları CLSI kılavuzunda belirtilen duyarlılık sınırlarına göre yorumlandı (5).

Çalışmada *mecA* pozitifliğini saptamak amacıyla Olivera ve ark. (6)'nın kullandığı primerler (MECA P4:TCCAGATTACAACCTCACCAGG, MECA P7:CCATTCATATCTTGTAACG) ile polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) uygulandı.

BULGULAR

Oksasilin ve sefoksitin disk difüzyonu ile E-test sonuçları karşılaştırıldığında en büyük uyumsuzluk KNS suşlarında sefoksitin E-test ve disk difüzyon verilerinde gözlenmiştir (Tablo 1).

Moleküler çalışma sonucunda otomatize sistem ile metisilin dirençli saptanan iki *S. aureus* ve altı KNS suşunda *mecA* geni saptanamamıştır (Tablo 2).

mecA geni saptanamayan sekiz suş, konvansiyonel yöntemlerle duyarlılıkları açısından irdelenerek Tablo 3'de sunulmuştur.

Tablo 2. *S. aureus* ve KNS suşlarında *mecA* geni

	MecA	
	+	-
<i>S. aureus</i>	98	2
KNS	94	6

KNS: Koagülaz negatif stafilocok

Tablo 3. mecA geni saptanamayan stafilocok suşlarının konvansiyonel yöntemlerle duyarlılık sonuçları

Suş no ve türü	Oksasilin disk difüzyon	Oksasilin E-test	Sefoksitin disk difüzyon	Sefoksitin E-test
54 <i>S. aureus</i>	Orta duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
71 <i>S. aureus</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
104 KNS	Dirençli	Dirençli	Duyarlı	Duyarlı
120 KNS	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
122 KNS	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
153 KNS	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
188 KNS	Dirençli	Dirençli	Duyarlı	Duyarlı
197 KNS	Dirençli	Dirençli	Duyarlı	Duyarlı

KNS: Koagülaz negatif stafilocok

Tablo 4. mecA geni içermelerine karşı konvansiyonel yöntemlerle farklı duyarlılık sonuçları saptanan suşlara ait veriler

Suş no ve türü	Oksasilin Disk Difüzyon	Oksasilin E-testi	Sefoksitin Disk Difüzyon	Sefoksitin E-testi
86 <i>S. aureus</i>	Orta duyarlı	Duyarlı	Dirençli	Dirençli
87 <i>S. aureus</i>	Dirençli	Dirençli	Dirençli	Orta duyarlı
106 KNS	Dirençli	Dirençli	Dirençli	Orta duyarlı
116 KNS	Dirençli	Dirençli	Dirençli	Duyarlı
119 KNS	Dirençli	Dirençli	Dirençli	Orta duyarlı
121 KNS	Dirençli	Dirençli	Dirençli	Orta duyarlı
124 KNS	Dirençli	Dirençli	Dirençli	Duyarlı
136 KNS	Dirençli	Dirençli	Dirençli	Duyarlı
141 KNS	Dirençli	Dirençli	Dirençli	Orta duyarlı
162 KNS	Dirençli	Dirençli	Dirençli	Duyarlı
171 KNS	Dirençli	Dirençli	Dirençli	Duyarlı
182 KNS	Dirençli	Dirençli	Dirençli	Orta duyarlı
183 KNS	Dirençli	Dirençli	Dirençli	Duyarlı

KNS: Koagülaz negatif stafilocok

Tablo 5. Koagülaz negatif stafilocok suşlarında oksasilin ve sefoksitin test uyumu

	Oksasilin		Sefoksitin	
	Disk difüzyon	E-test	Disk difüzyon	E-test
McNemar sonuçları	0.250	0.250	1.000	0.031*

* p<0.05 ise anlamlıdır

Tablo 6. *S. aureus* ve KNS suşlarında oksasilin ve sefoksitin için disk difüzyon ve E testlerinin duyarlılığı ile özgüllüğü

	Oksasilin				Sefoksitin			
	Disk difüzyon		E-test		disk Difüzyon		E-test	
	Duyarlılık	Özgüllük	Duyarlılık	Özgüllük	Duyarlılık	Özgüllük	Duyarlılık	Özgüllük
KNS	100	50	100	50	100	100		
<i>S. aureus</i>	98.97	100	98.97	100	100	100	100	100

KNS: Koagülaz negatif stafilocok

mecA geni saptanmış olmakla birlikte iki *S. aureus* ve 11 KNS suşunda konvansiyonel yöntemlerin bazılarıyla farklı duyarlılık sonuçları saptanmıştır (Tablo 4). Buna göre, bir *S. aureus* suşunda oksasilin disk difüzyon ve E-test sonucu, diğer *S. aureus* suşunda sefoksitin E-test sonucu uyumsuz olarak bulunmuşken, KNS'larda sefoksitin E-test sonuçlarının genellikle uyumsuz olduğu görülmüştür.

Metisilin direncini saptamada altın standart olarak kabul edilen mecA geni varlığı ile oksasilin, sefoksitin disk

difüzyonu ve E-test sonuçlarının uyumu istatistiksel olarak irdelendiğinde; *S. aureus* suşlarında dört konvansiyonel testin tamamı, KNS suşlarında ise sefoksitin E-testi dışındaki diğer fenotipik testlerin mecA ile uyumlu bulunmuştur (Tablo 5).

Staphylococcus aureus ve KNS suşlarının oksasilin ve sefoksitin disk difüzyon ile E-test sonuçlarının duyarlılık ve özgüllükleri Tablo 6'da sunulmuştur.

mecA ile sefoksitin E-testi karşılaştırıldığında, fazla sayıda orta duyarlı suş olduğundan sonuçların etkilendiği gözlemlendi. Bu nedenle orta duyarlı suşlar dirençli veya duyarlı kabul edilerek ya da analiz dışı bırakılarak duyarlılık ve özgüllükleri hesaplandı. Buna göre;

a) Orta duyarlı suşlar dirençli kabul edildiğinde; duyarlılık: % 95.74, özgüllük: % 100 olarak bulundu, McNemar testine göre anlamlı değildi ($p=0.125$).

b) Orta duyarlı suşlar duyarlı kabul edildiğinde; duyarlılık: % 89.36, özgüllük: % 100 olarak saptandı, McNemar testine göre anlamlı idi ($p=0.002$). Yanlış negatif sayısının fazla olması nedeniyle bu sonuç elde edildi.

c) Orta duyarlı suşlar analizden çıkartıldığında; duyarlılık: % 95.45, özgüllük: % 100 olarak bulundu, McNemar testine göre anlamlı değildi ($p=0.125$).

TARTIŞMA

Metisilin direncini saptamada mecA geninin gösterilmesi altın standart olarak kabul edilmekle birlikte; rutin uygulamada, yakın zamana kadar oksasiline duyarlılığını belirleyen testler referans yöntem olarak kullanılmıştır. Sefoksitin, özellikle heterojen dirençli suşların saptanmasında mecR1 için daha iyi ve hızlı bir indükleyici olduğu düşünülmekte ve metisilin direncini belirlemede alternatif olarak kullanılabileceği bildirilmektedir (5,7-9).

S. aureus için sefoksitin disk testi, CLSI klavuzunda oksasiline duyarlılık ve özgüllük yönünden eşdeğer olarak gösterilmektedir. KNS suşlarında ise sefoksitin disk difüzyon testinin, oksasiline MİK testleri ile karşılaştırıldığında aynı duyarlılıkta, buna karşın daha yüksek özgüllükte olduğu ifade edilmekte; sefoksitin disk difüzyon testinin oksasiline duyarlı suşları tanımlamada oksasiline MİK testinden daha doğru sonuç verdiği bildirilmektedir (5,7-9).

Çalışmamızda yer alan 100 *S. aureus* ve 100 KNS suşunun metisilin duyarlılığı moleküler ve konvansiyonel yöntemler ile araştırıldı. Phoenix otomatize tanı sisteminde metisiline dirençli suşlar seçilerek çalışmaya alınmış olmakla beraber, bazı farklı sonuçlar elde edildi (Tablo 1-4). Sistem direnç belirlemede oksasiline ve sefoksitin MİK değerlerine göre CLSI önerilerini göz önüne alarak kural işletmekte ve sonuç yorumu yapmakta; özellikle KNS'da MİK sınır değerleri düşürülerek yanlış negatifliklerin önüne geçilmeye çalışılmaktadır. mecA negatif suşlarda, fenotipik olarak dirençli bulunan suşların aşırı β -laktamaz yapımı, metisilini inaktive eden enzimlerin varlığı, PBP2a dışında penisilin bağlayan proteinlerin bulunması gibi farklı mekanizmalar ile açıklanabileceği ifade edilmektedir (10-12). Ayrıca otomatize sistemler ile yanlış negatif sonuçlara rastlanmadığı, düşük oranda da olsa yanlış pozitif sonuçların elde edilebileceği, çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (7,13).

Çalışmamızda, oksasiline ve sefoksitin disk difüzyon ve E-test sonuçlarının, metisilin direncini saptamada altın standart olarak kabul edilen mecA geni varlığı ile uyumu istatistiksel olarak incelendiğinde, *S. aureus* suşlarında dört konvansiyonel testin tamamı uyumlu bulundu. KNS'ların sefoksitin E-testi dışındaki testleri mecA ile uyumlu bulunurken; sefoksitin E-testi sonuçlarının mecA ile uyumlu olmadığı görüldü (Tablo 5). Bu testlere ait duyarlılık ve özgüllükler incelendiğinde (Tablo 6), *S. aureus*'da sefoksitin disk difüzyon ve E-testi, duyarlılık ve özgüllük açısından yüksek, oksasiline için özgüllük aynı, duyarlılığın ise daha düşük olduğu gözlemlendi. KNS'da ise, sefoksitin disk difüzyon ile saptanan duyarlılığın oksasiline eşdeğer olduğu, sefoksitin özgüllüğünün ise daha yüksek olduğu görüldü. Sefoksitin E-test ise, orta duyarlı suşların fazla olması nedeniyle mecA ile uyumlu bulunmadı. Swenson ve ark. (8) KNS ve *S. aureus* suşlarında oksasiline ve sefoksitin için disk difüzyon ve E-testi ile duyarlılıkları araştırmış, testlerin duyarlılık ve özgüllük oranları; *S. aureus* için; oksasiline duyarlılığı ve özgüllüğü disk difüzyon testi için % 98, % 99, E-test için % 98, % 100; sefoksitin duyarlılığı ve özgüllüğü disk difüzyon % 98, % 100, E-test için ise % 99, % 99 saptamışlardır. KNS suşları için oksasiline duyarlılığı ve özgüllüğü disk difüzyon testi için % 99, % 89, E-test için % 98, % 91; sefoksitin duyarlılığı ve özgüllüğü disk difüzyon testi ile % 99, % 97, E-test ile % 98, % 97 olarak bulmuşlardır. Boubaker ve ark. (14) çalışmasında, 115 MRSA ve 350 metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) suşunda metisilin direncinin saptanmasında oksasiline ve sefoksitin disk difüzyon testini kullanılmış; mec A sonuçları ile bir arada irdelenmiştir. Bu çalışmada; disk difüzyon ile oksasiline duyarlılığı % 90.4, özgüllüğü % 99.1, disk difüzyon ile sefoksitin duyarlılığı % 96.5, özgüllüğü % 100 olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında sonuçların benzer olduğu gözlenmektedir. Ancak bizim bulgularımızda, KNS'larda sefoksitin E-testinde orta duyarlı suşlarımızın fazla olması nedeniyle duyarlılık ve özgüllükleri hesaplanamamış, farklı olasılıklar göz önüne alınarak irdelen-

miş, orta duyarlı suşlar duyarlı kabul edilecek olursa istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, analiz dışı bırakıldığı veya dirençli kabul edildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu konuda yapılan çeşitli çalışmalarda sefoksitin disk difüzyon testinin oksasiline alternatif olabileceği (8,14-16), bazı çalışmalarda ise daha büyük serilerin çalışılarak irdelenmesi gerektiği belirtilmektedir (9,15). KNS'larda cefoksitin E-testinin duyarlılık sınırlarının daha fazla suş ile yapılan çalışmalarla geliştirilmesi gerekeceği görüşünü bizim bulgularımız da desteklemektedir.

Stafilokoklardan penisilinazı aşırı üreten suşlarda oksasilin disk difüzyon testlerinde küçük bir inhibisyon zonu oluşabileceği ya da hiç zon oluşturmayacağı bildirilmekte; sefoksitin ile yapılan testlerde sorun gözlenmektedir (7). Bizim çalışmamızdaki 54 no'lu (*S. aureus*) suşumuzun mecA geni taşımamasına rağmen oksasilin diski ile orta duyarlı bulunması (zon çapı 12 mm) aşırı penisilinaz üretmesiyle ilişkili olabilir (Tablo 3).

Sonuç olarak

- Çalışmamızda, hem *S. aureus* hem de KNS suşlarında metisiline direncin gösterilmesinde, referans yöntem olan mecA geninin varlığı ile kıyaslandığında, fenotipik yöntemlerin sefoksitin E-testi dışında uygun olduğu, sefoksitin E-testinin MRSA izolatlarında daha duyarlı sonuçlar verirken, KNS'larda kullanımının bizi yanıltabileceği sonucuna varıldı. Fenotipik yöntemler arasında olup, son yıllarda kullanımı önerilen sefoksitin disk difüzyon testinin, hem duyarlılık hem özgüllük açısından daha iyi olduğu ve metisilin direncini belirlemede oksasilin disk difüzyon ve E-test yöntemlerine alternatif olarak ve/veya birlikte kullanılabileceği ortaya konulmuştur.
- Çalışmada kullanılan suşların rutin olarak kullanılan otomatize sistem ile metisiline dirençli olarak saptanmasına karşı, çok küçük bir oranda da olsa mecA geni içermemesi; mecA yönünden yanlış pozitif sonuçlar elde edilebileceğini, ancak farklı direnç mekanizmalarının bu durumun sebebi olabileceği, o nedenle dikkatli olmak gerektiğini gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Gemmel CG. Glicopeptide resistance in *Staphylococcus aureus*: is it a real threat? *J Infect Chemother* **2004**; 10: 69-75.
2. Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, Ito T. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends in Microbiology* **2001**; 9: 486-93.
3. Hiramatsu K, Katayama Y, Yuzawa H, Ito T. Molecular genetics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol* **2002**; 292: 67-74.
4. Enright MC, Robinson DA, Randle G, et al. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *PNAS* **2002**; 99: 7687-92.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 15th Information Supplement M100-S15. Wayne, Pa: CLSI, **2005**.
6. Oliveira DC, Lencastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the *mec* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* **2002**; 46: 2155-61.
7. Brown DFJ, Edwards DI, Hawkey PM, et al. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Antimicrob Chemother* **2005**; 56: 1000-18.
8. Swenson JM, Tenover FC. Results of disk diffusion testing with cefoxitin correlate with presence of *mecA* in *Staphylococcus spp.* *J Clin Microbiol* **2005**; 43: 3818-23.
9. Frigatto EAM, Machado AMO, Pignatari ACC, Gales AC. Is the cefoxitin disk test reliable enough to detect oxacillin resistance in coagulase-negative staphylococci? *J Clin Microbiol* **2005**; 43: 2028-9.
10. Gülay Z. Beta-laktamlara direnç mekanizmaları. Ulusoy S, ed. *Beta-laktamazlar ve Klinik Önemi*'nde. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, **2005**: 9-34.
11. Spanu T, Sanguinetti M, D'Inzeo T, et al. Identification of methicillin-resistant isolates of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci responsible for blood stream infections with the PhoenixTM system. *Diagn Microbiol Infect Dis* **2004**; 48: 221-7.
12. Tenover FC, Jones RN, Swenson JM, Zimmer B, McAllister S, Jorgensen JH. Methods for improved detection of oxacillin resistance in coagulase-negative staphylococci: Results of a multicenter study. *J Clin Microbiol* **1999**; 37: 4051-8.
13. Frebourg NB, Nouet D, Lemee L, Martin E, Lemeland JF. Comparison of ATB Staph, Papid ATB Staph, Vitek, and E-Test methods for detection of oxacillin heteroresistance in staphylococci possessing *mecA*. *J Clin Microbiol* **1998**; 36: 52-7.

14. **Cauwelier B, Gordts B, Descheemaeker P.** Evaluation of a disk diffusion method with cefoxitin (30 µg) for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2004**; 23: 389-92.
15. **Felten A, Grandry B, Lagrange PH, Casin I.** Evaluation of three techniques for detection of low-level methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a disk diffusion method with cefoxitin and moxalactam, the Vitek 2 System, and the MRSA-screen latex agglutination test. *J Clin Microbiol* **2002**; 40: 2766-71.
16. **Boubaker BB, Abes RB, Abdallah HB, et al.** Evolution of a cefoxitin disk diffusion test for the routine detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect* **2004**; 10: 762-5.

İLETİŞİM

Yrd. Doç. Dr. Melda SINIRTAŞ
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
016285 Görükle, BURSA
e-posta: melda@uludag.edu.tr