

Staphylococcus aureus İzolatlarında Metisilin Direncinin Disk Difüzyon, Kromojenik Besiyeri, Gradient Difüzyon Testi ve Oksasilin Agar Tarama Yöntemleriyle Araştırılması[§]

Elvan HORTAÇ*, Ebru EVREN**, Fikret ALTUNAY***, Utku KUYUCU***, Okan ERGEN***

*Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

***Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Öğrenci Çalışma Grubu

ÖZET

Amaç: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonların önde gelen bir patojeni olarak tüm dünyada önemli bir sağlık sorunudur. Metisilin direncini kodlayan *mecA* gen varlığı altın standart yöntem olarak kabul edilen Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile gösterilebilmesine rağmen, rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında olanakların kısıtlı olması PZR kullanımını sınırlandırmaktadır. Bu nedenle güvenilir MRSA tanısı koyabilmek için kullanılan fenotipik yöntemler hâlen tanıda önemli bir yer tutmaktadır. Başkent Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş *S. aureus* izolatlarında metisilin direncini belirlemede kullanılan fenotipik yöntemlerin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 118 *S. aureus* izolatı dâhil edilmiştir. Sefoksitin disk difüzyon testi (SDD) ile bu izolatların 50'si metisiline dirençli, 68'i duyarlı olarak bulunmuştur. SDD testi referans yöntem olarak kabul edilerek metisilin direncini belirlemek için kromojenik besiyeri, gradient difüzyon testi ve oksasilin tarama besiyeri kullanılmıştır.

Bulgular: Oksasilin tarama besiyeri, kromojenik besiyeri ve gradient difüzyon testinin duyarlılıkları sırasıyla; %100, %96 ve %92; özgülükleri ise %91, %7 ve %100 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre, kromojenik besiyerinin metisilin direncini belirlemesi istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p=0.697$). Diğer fenotipik yöntemlerin metisilin direncini tespiti istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$). Yüksekten düşüğe test maliyetleri sıralaması ise gradient difüzyon testi, kromojenik besiyeri, oksasilin tarama besiyeri ve disk difüzyon testi şeklindedir.

Sonuç: Bu çalışmada kullanılan fenotipik yöntemlerin tümü rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında metisilin direncinin tespiti için kullanılabilir niteliktedir, ancak kromojenik besiyeri ile yanlış pozitif sonuçlar elde edilebildiğinden özellikle MRSA yönünden pozitif çıkan sonuçlarda tek başına kullanılmaması, başka bir fenotipik yöntemle sonucun doğrulanması gerektiği düşüncesine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Gradient difüzyon testi, kromojenik besiyeri, oksasilin tarama besiyeri, sefoksitin disk difüzyon

SUMMARY

Investigation of Methicillin Resistance in Staphylococcus aureus Isolates by Using Disc Diffusion, Chromogenic Media, Gradient Diffusion Test, Oxacillin Agar Screening Methods

Objective: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a major health concern worldwide as one of the predominant pathogens in nosocomial infections. Although Polymerase Chain Reaction (PCR) is the gold standard method for the detection of *mecA* gene which codes methicillin resistance, limited opportunities in routine microbiology laboratories restrict the use of PCR. Therefore, phenotypic methods for the detection of MRSA still have an important role in diagnosis. The aim of this study is to compare the phenotypic methods used to determine methicillin resistance of *S. aureus* strains isolated from various clinical samples at Başkent University Medical Microbiology Laboratory.

Material and Methods: A total of 118 *S. aureus* isolates were analyzed in the study. By using cefoxitin disc diffusion (CDD) method 50 of these isolates were found to be methicillin-resistant and 68 were methicillin-susceptible. Chromogenic medium, gradient diffusion test and oxacillin screening agar were used for the detection of methicillin resistance, and CDD was accepted as the reference method.

Results: The sensitivities, and specificities of oxacillin screening agar, chromogenic medium and gradient diffusion test were 100%, 96% and 92% vs 91%, 7% and 100%, respectively. According to these results the detection of methicillin resistance by chromogenic media was not found to be statistically significant ($p=0.697$). Detection of methicillin resistance by the other phenotypic methods was detected to be statistically significant ($p<0.001$). The costs of the methods used based on decreasing amounts of expenses are gradient diffusion test, chromogenic media, oxacillin screening agar and cefoxitin disc diffusion test.

Conclusion: All of the phenotypic methods employed in this study can be used for the detection of methicillin resistance in routine microbiology laboratories, however since false-positive results can be obtained with chromogenic media, it has been concluded that especially positive isolates detected in CDD method should be reevaluated, and confirmed by using other phenotypic methods.

Key words: Gradient diffusion test, chromogenic media, oxacillin screening agar, cefoxitin disc diffusion

Alındığı tarih: 18.05.2016

Kabul tarihi: 27.06.2016

Yazışma adresi: Elvan Hortaç, Başkent Üniversitesi Bağlıca Kampüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Eskişehir Yolu 20. km Tıp Fakültesi Binası Etimesgut / Ankara **Tel:** (0312) 246 66 66/1828

e-posta: elvanhortac@gmail.com

[§] Bu araştırma 13-15 Mayıs 2015 tarihinde Başkent Üniversitesi XVII. Öğrenci Sempozyumu Çalışma Grubu Sunumları'nda sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Staphylococcus aureus toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlara yol açabilen önemli bir insan patojenidir. Giderek artan oranlarda gözlenen antibiyotik direnci önemli bir halk sağlığı sorunudur. *S. aureus* suşlarındaki metisilin direnci bir gen kompleksi olan *mecA* tarafından kodlanır ve penisilin bağlayan proteindeki (PBP) değişimle PBP2a ekspresyonuna neden olur⁽¹⁾. Bu modifiye proteinin ekspresyonu özellikle beta laktam antibiyotiklere düşük bağlanma ilgisine neden olarak mikroorganizmanın antibiyotik etkiden kurtulmasını sağlar⁽²⁾. PBP2a ekspresyonu yapan suşlar yalnızca beta laktam antibiyotiklere değil, farklı birçok antibiyotik türüne de direnç geliştirmektedir⁽³⁾. Bu çoklu antibiyotik direnci nedeniyle uygun antikekoterapötik tedavi için metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) tanısının doğru konulması son derece önemlidir.

MRSA tespiti fenotipik ve genotipik yöntemlere göre yapılmaktadır. Genotipik tanı yöntemi olan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) her ne kadar altın standart tanı yöntemi olarak kabul edilse de, günümüzde fenotipik tanı yöntemleri rutin laboratuvarlarda halen MRSA tanısında büyük bir yer kaplamaktadır. Bu nedenle hızlı, güvenilir ve kolay uygulanabilir fenotipik testler direnç tespiti açısından son derece önemlidir. Sefoksitin disk difüzyon, sıvı mikrodilüsyon ve oksasilin agar tarama testleri Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından önerilen fenotipik yöntemlerdir⁽⁴⁾. MRSA direncini tespit eden kromojenik besiyerleri de bulunmaktadır. Bu besiyerleri MRSA enzim substratları içerir ve enzim varlığında reaksiyon sonucu renkli koloniler oluşmasını sağlar. Kromojenik agarla ilgili yapılan çalışmalar değişik duyarlılık ve özgüllük değerleri bildirmekle beraber, bu besiyerlerinin diğer fenotipik yöntemlere oranla hızlı sonuç veren testler olduğu bildirilmektedir⁽⁵⁻⁸⁾.

Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş olan *S. aureus* izolatlarında metisilin direncini belirlemede kullanılan fenotipik yöntemlerden sefoksitin disk difüzyon (SDD) testi, oksasilin agar tarama testi, gradient difüzyon testi ve kromojenik besiyerinin özgüllük/duyarlılık ve maliyet açısından karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya 2013–2014 yılları arasında Başkent Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 118 *S. aureus* izolatı dâhil edildi.

Bakteri tanımlaması Gram boyama, katalaz reaksiyonu, lamda ve tüpte koagülaz reaksiyonu, mannitol salt agar (Becton Dickinson (BD), ABD) ve lateks aglütinasyon (Staph Xtra Latex Kit – Pro-Lab Diagnostics, Kanada) yöntemleri kullanılarak yapıldı.

Metisilin direncinin belirlenmesinde sefoksitin disk difüzyon testi (30 µg, BD, ABD), gradient difüzyon testi (E-Test-Oksasilin® - bioMérieux, Fransa), kromojenik agar besiyeri (CHROMagar® MRSA II – BD, ABD), ve oksasilin agar tarama besiyeri (Oxacillin toz-Sigma, Almanya, Mueller-Hinton Agar-BD, ABD) kullanıldı. Disk difüzyon testi, oksasilin agar tarama besiyeri ve kromojenik agar besiyeri için *S. aureus* ATCC 25923 ve MRSA ATCC 43300, gradient difüzyon yöntemi için *S. aureus* ATCC 29213 ve MRSA ATCC 43300 standart suşları kullanıldı.

Disk difüzyon test sonuçları CLSI standartlarına göre değerlendirildi. SDD testi için dirençli ve duyarlı zon çapları sırasıyla ≤21 mm ve ≥22 mm olarak alındı⁽⁴⁾. E-Test-Oksasilin® testi sonuçları, üretici, firmanın önerisiyle OX≥4 µg/mL olan suşlar MRSA olarak yorumlandı. Kromojenik agar sonuçları da üretici firmanın önerileri doğrultusunda değerlendirildi; pembe-lila koloni

oluşturan bakteriler MRSA, üreme olmayan plaklar ve renksiz (bej-beyaz) koloniler oluşturmuş suşlar metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) olarak tanımlandı. Oksasilin agar tarama besiyerinde üreyen koloniler MRSA, üremeyen koloniler ise MSSA lehine değerlendirildi.

SDD yöntemi referans yöntem olarak kabul edilerek çalışmada kullanılan yöntemlerin metisilin direncini saptamadaki duyarlılık ve özgüllüğü, aynı zamanda bir izolat için maliyeti hesaplandı.

Veri analizi Monte Carlo simülasyonlu ki-kare testi ve Fisher Exact test ile yapıldı. Ardından özgün oranlar hesaplandı. Veri analizinde SPSS 17 (Statistical Packet Program for Social Sciences, Ver 17.00, Chicago IL, ABD) istatistik paket programı kullanıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bu çalışma Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu tarafından onaylanmış (Proje No: DA 14/26) ve Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu'na desteklenmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya dâhil edilen izolatların tamamı serviste yatan hastalardan izole edilmiş olup, %68'i erkek, %32'si kadın hastalara aittir. Hastaların yaş aralığı 0-91 arasında değişmektedir. SDD testi referans yöntem olarak alındığında çalışmaya alınan 118 suşun 50'si (%42) MRSA, 68'i (%58) MSSA olarak tanımlanmıştır. MSSA olarak tanımlanan 68 suşun 34'ü yara, 10'u katater, 16'sı kan ve 8'i idrar kültüründen izole edilirken, MRSA olarak tanımlanan 50 suşun 26'sı yara, 8'i katater, 9'u kan ve 7'si de idrar kültüründen izole edilmiştir. İzolatların servislere göre dağılım yüzdelere bakıldığında, MRSA suşları en çok cerrahi branşlardan (%44) izole edilmekle birlikte, bunu dâhili branşlar (%32) ve yoğun bakım izlemektedir (%24). MSSA için de bu sıralama değişmemektedir (%50 cerrahi ser-

Tablo 1. Örneklerin gönderildiği kliniklere göre hasta sayılarının dağılımı.

Klinik	Örnek Sayısı (MRSA)	Örnek Sayısı (MSSA)
Cerrahi Branşlar		
Ortopedi	7	8
Genel Cerrahi	4	3
Erişkin Kalp ve Damar Cerrahisi	3	18
Çocuk Kalp ve Damar Cerrahisi	3	3
Çocuk Cerrahisi	2	1
Kadın Hastalıkları ve Doğum	1	1
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi	2	-
Dâhili Branşlar		
Pediyatri	1	2
Geriyatri	6	9
Genel Dâhiliye	8	6
Nefroloji	1	1
Dermatoloji	-	4
Yoğun Bakım Üniteleri		
Dâhiliye Yoğun Bakım	5	4
Anestezi-Cerrahi Yoğun Bakım	6	6
Yanık Yoğun Bakım	1	2
TOPLAM SAYI	50	68

visler, %32.4 dâhili servisler ve %17.6 yoğun bakım). Örneklerin gönderildiği kliniklere göre hasta sayıları Tablo 1'de gösterilmiştir.

MRSA olarak tanımlanan 50 suşun tamamı oksasilin agar tarama besiyerinde metisiline dirençli olarak tanımlanırken, gradient difüzyon testinde 50 suşun 46'sı (%92), kromojenik besiyerinde ise 48'i (%96) MRSA olarak tanımlanmıştır.

SDD testinin MSSA olarak tanımladığı 68 suşun tamamı gradient difüzyon testinde metisiline duyarlı bulunurken, oksasilin agar tarama besiyerinde 62'si (%91.2), kromojenik besiyerinde ise yalnızca 5'i (%7.4) metisiline duyarlı olarak tespit edilmiştir (Tablo 2). *S. aureus* ATCC 25923 standart suşu da kromojenik besiyerinde şüpheli sonuç vermiştir.

Gradient difüzyon testi ve oksasilin agar tarama besiyerinin metisilin direncini tespit etmesi istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0.001$). Ancak kromojenik besiyerinin metisilin direncini tespiti istatistiksel açıdan anlamlı değildir ($p = 0.697$).

Tablo 2. Sefoksitin disk difüzyon testi referans alınarak karşılaştırılan yöntemler.

Yöntemler	Metisiline dirençli (n=50)		Metisiline duyarlı (n=68)	
	MRSA	MSSA	MRSA	MSSA
Gradient Difüzyon	46 (%92)	4 (%8)	0 (%0)	68 (%100)
Kromojenik Besiyeri	48 (%96)	2 (%4)	63 (%92.6)	5 (%7.4)
Oksasilin Tarama Besiyeri	50 (%100)	0 (%0)	6 (%8.8)	62 (%91.2)

Tablo 3. Gradient difüzyon, oksasilin tarama besiyeri ve kromojenik besiyeri yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllükleri.

MRSA	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
Gradient difüzyon	92	100
Oksasilin Tarama Besiyeri	100	91
Kromojenik Besiyeri	96	7

MRSA varlığını saptamada kullanılan testlerin duyarlılığı %92-100 arasında bulunmuştur. SDD yöntemi referans yöntem olarak kabul edildiği zaman, en duyarlı olan testin MRSA tarama besiyeri olduğu tespit edilmiştir (%100). Kromojenik besiyerinin özgüllüğü ise diğer yöntemlerden düşük bulunmuştur (%7) (Tablo 3).

Bir suş için testlerin maliyet analizi yapıldığında, en pahalı yöntemin gradient difüzyon yöntemi olduğu (1 suş için 11.5 TL), bunu sırasıyla kromojenik agar (1 suş için 5.33 TL), oksasilin agar tarama besiyeri (1 suş için 0.45 TL) ve disk difüzyon testinin (1 suş için 0.34 TL) izlediği görülmüştür.

TARTIŞMA

mecA gen kompleksinin varlığı PBP2a üretimine neden olur. Ancak yalnızca belli bir grup MRSA subpopülasyonu yüksek düzeyde PBP2a üretir, bu heterojenite de MRSA tanısının fenotipik olarak konulmasını zorlaştırmaktadır⁽⁹⁾. Konulan yanlış duyarlı sonuçlar hem etkisiz antibiyotik kullanımı sonucu yetersiz tedaviye hem de dirençli suşların yayılmasına neden olmaktadır. Tersine bir durum olarak yanlış metisilin direnci tanısı ise tedavide son basamak için saklanması gereken glikopeptid antibiyotiklerin

gereksiz yere kullanılması ve gereksiz tıbbi izolasyon yöntemlerinin kullanılmasına neden olmaktadır⁽¹⁰⁾.

Metisilin direncinin kesin tanısı PZR ile *mecA* geninin gösterilmesiyle konulsa da bu yöntem hem donanımlı bir laboratuvar ortamı hem de eğitimli personel gerektirdiğinden rutinde kullanımı zor bir yöntemdir⁽¹¹⁾. Bu nedenle MRSA doğru tanısını konvansiyonel yöntemlerle koymak ayrı bir önem taşımaktadır.

CLSI önerisiyle metisilin direncinin konvansiyonel yöntemlerle belirlenmesinde metisilin diskine göre hem daha stabil hem de MRSA tanısında daha yüksek özgüllüğe sahip bir diğer penisilin türevi olan oksasilin kullanılmaktaydı⁽¹²⁾. Fakat heterojen direnç sonucu yalnızca oksasilin kullanılan tarama testleri MRSA - MSSA ayırımını yeterli düzeyde yapamamaktadır^(13,14). Bu nedenle CLSI ek olarak stafillokok türlerinde metisilin direncinin araştırılmasında oksasilinli MRSA tarama besiyeri, sefoksitin disk difüzyon, agar dilüsyon, PCR ve lateks aglütinasyon gibi yöntemleri önermektedir⁽⁴⁾.

Sefoksitin özellikle *mecA* düzenleyici sistemin potent indükleyicisidir ve yapılan çalışmalar sefoksitin diskinin moleküler yöntemlere alternatif olabileceğini göstermiştir^(12,13). Dünyada yapılan bazı çalışmalar disk difüzyon testinde oksasilin yerine sefoksitin diski kullanmanın MRSA tespitinde daha duyarlı (%100'e karşın %80-89.5) olduğunu göstermiştir^(15,16). Türkiye'de yapılan çalışmalarda ise, Telli ve ark.⁽¹⁰⁾ SDD yönteminin duyarlılık ve özgüllüğünü

%99.1 olarak; Özel ve ark.⁽¹⁷⁾ sırasıyla %98.6 ve %100 olarak bildirmiştir. SDD yöntemi uygulaması kolay, yüksek duyarlılık ve özgüllükte ayrıca maliyet etkin bir yöntemdir.

Günümüzde hızlı MRSA tanısı koymak amacıyla geliştirilen ticari besiyerlerinden biri de kromojenik agardır. Yapılan bazı çalışmalar kromojenik enzim substratları içeren bu besiyerlerini MRSA suşlarını tanımlamada diğer fenotipik yöntemlere göre daha duyarlı ve özgül, aynı zamanda pratik testler olarak tanımlamışlardır^(5,18). Ülkemizde kromojenik agarla ilgili yapılan çalışmalardan Cesur ve ark.⁽⁷⁾ kromojenik besiyerinin duyarlılığını %95.5 olarak bildirirken, özgüllüğünü düşük bulmuş ve %37.6 olarak bildirmiştir. Yine Türkiye'den Uzun ve ark.⁽¹⁹⁾ duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %96.7 ve %81.6 olarak saptamışlardır. Dünyada yapılan birçok çalışmada, kromojenik besiyerinin duyarlılığı %81.9-95.4 arasında, özgüllüğü %96.7-100 arasında tespit edilmiştir^(6,8,20). Çalışmamızda da Cesur ve ark.⁽⁷⁾ sonuçlarına paralel olarak kromojenik besiyerinin duyarlılığı yüksek (%96) tespit edilmiş, özgüllüğü ise son derece düşük (%7) bulunmuştur.

Gradient difüzyon yöntemi, oksasilinin minimal inhibitör konsantrasyonunu belirlemek amacıyla kullanılmaktadır. Velasco ve ark.⁽²¹⁾ 102 *S. aureus* suşunda metisilin direncini tespit için birçok farklı metodu kullandığı çalışmada, gradient difüzyon testinin duyarlılığı %94.1, özgüllüğü %100 olarak bulunmuştur ve gradient difüzyon yönteminin MRSA taramasında diğer fenotipik yöntemlere kıyasla özgülük ve duyarlılıkta bir artışa neden olmadığı gösterilmiştir. Türkiye'de Ögünç ve ark.⁽²²⁾ yaptığı çalışmada, gradient difüzyon yönteminin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %98.5-100 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda, gradient difüzyon yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek (%92/100) tespit edilmesine karşın, sefoksitin disk difüzyon yöntemine göre bir üstünlüğü görülmemiştir. Bu

çalışmalarda dikkat edilmesi gereken ortak nokta, gradient difüzyon yönteminin duyarlılığının özgüllüğüne göre düşük oluşudur. Yani bu yöntemin yanlış negatif sonuç verme olasılığı, yanlış pozitif sonuç verme olasılığından daha yüksektir. Ayrıca yüksek maliyeti nedeniyle rutin laboratuvarlarda kullanımı kısıtlayıcı bir etkindir.

MRSA tespiti için kullanılan bir diğer yöntem 6 µg/mL oksasilin ve %4 NaCl içeren Mueller-Hinton agar besiyerine ekim yapılarak uygulanan oksasilin agar tarama besiyeridir. Besiyerinde *S. aureus* kolonisinin ürediğinin görülmesi genellikle o izolatin *mecA* gen bölgesi içerdiği anlamına gelir. Ancak ender de olsa düşük ekspresyon gösteren heterorezistan *mecA* pozitif suşlar bu besiyerinde üremeyebilir. Bu şekilde heterojen direnç gösteren suşlar için MRSA agar tarama testinin performansı düşük olabilir ve bu suşlar tespit edilemeyebilir⁽²³⁾. Yapılan çalışmalar oksasilin agar tarama testinin duyarlılığının %94-99, özgüllüğünün %90-92.5 arasında değiştiğini bildirmektedir⁽²⁴⁻²⁶⁾. Heterojen dirençli suşlarla çalışıldığında duyarlılığın azaldığını gösteren çalışmalar da mevcuttur⁽²⁶⁾. Türkiye'den Telli ve ark.'nın⁽¹⁰⁾ 300 *S. aureus* suşunda içinde MRSA agar tarama yönteminin de dâhil olduğu fenotipik yöntemlerle metisilin direncini araştırdığı çalışmada MRSA agar tarama yöntemini %98.8 duyarlı ve %98.3 özgül bulmuşlardır. Çalışmamızda da oksasilin agarda 50 MRSA suşunun tamamı (%100 duyarlı) ürerken, 68 MSSA suşundan 62'sinde üreme olmamıştır (%91 özgül). Oksasilin agar tarama yöntemi kolay uygulanabilen, düşük maliyetli ve yüksek duyarlılıkta bir testtir.

Sonuç olarak, *mecA* pozitif ve negatif *S. aureus* suşlarının ayırımında kullanılan gradient difüzyon yöntemi sefoksitin disk yöntemiyle yakın duyarlılık ve özgüllükte, MRSA agar tarama testi ise yüksek duyarlılıkta bulunmuştur. Gradient difüzyon yönteminin maliyet açısından

kısıtlayıcı etkisi göz ardı edilirse bu yöntemlerin hepsi rutin mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılabilir niteliktedir. Ancak kromojenik besiyerinin özgülüğü düşük, yanlış pozitif sonuç verme oranı yüksek bulunmuştur ve rutin tarama testi olarak tek başına kullanımı yerine diğer yöntemlerle birlikte kullanılması gerektiği düşüncesine varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. **Roisin S, Nonhoff C, Denis O, Struelens M.** Evaluation of new Vitek 2 card and disk diffusion method for determining susceptibility of *Staphylococcus aureus* to oxacillin. *J Clin Microbiol* 2008; 46:2525-8.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00291-08>
2. **Santiago C, Lim KH, Loh HS, Ting KN.** Inhibitory effect of *Duabanga grandiflora* on MRSA biofilm formation via prevention of cell-surface attachment and PBP2a production. *Molecules* 2015; 20:4473-82.
<http://dx.doi.org/10.3390/molecules20034473>
3. **Grundmann H, Aires-de-Sousa M, Boyce J, Tiemersma E.** Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *Lancet* 2006; 368:874-85.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68853-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68853-3)
4. **CLSI.** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 24th Informational Supplement, M100-S24, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
5. **Al-Mussawi AA.** Detection of *Staphylococcus aureus* and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from human clinical specimens using conventional biochemical tests and chromogenic media. *Indian J Appl Res* 2014; 4:7-9
<http://dx.doi.org/10.15373/2249555X/FEB2014/150>
6. **Diederer B, van Duijn I, van Belkum A, Willems P, van Keulen P, Kluytmans J.** Performance of chromagar MRSA medium for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2005; 43:1925-7.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.43.4.1925-1927.2005>
7. **Cesur S, Yıldız E, Irmak H, ve ark.** *Staphylococcus aureus* klinik izolatlarda metisilin direncinin saptanmasında oksasilin direnci tarama agar ve kromojenik MRSA agar besiyerlerinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2010; 44:279-84.
8. **Malhotra-Kumar S, Abrahantes JC, Sabiiti W, et al.** Evaluation of chromogenic media for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2010; 48:1040-6.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01745-09>
9. **Cauwelier B, Gordts B, Descheemaeker P, Van Landuyt H.** Evaluation of a disk diffusion method with cefoxitin (30 microg) for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23:389-92.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10096-004-1130-8>
10. **Telli M, Sümerkan B, Eşel D.** *Staphylococcus aureus*'ta metisilin direncinin belirlenmesinde sefoksitin disk, oksasilin disk, oksasilin agar tarama ve PBP2a lateks testlerinin karşılaştırılması. *İnfeks Derg* 2006; 20:93-6.
11. **Marlowe EM, Bankowski MJ.** Conventional and molecular methods for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2011; 49:53-6.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00791-11>
12. **Broekema NM, Van TT, Monson TA, Marshall SA, Warshauer DM.** Comparison of cefoxitin and oxacillin disk diffusion methods for detection of *mecA*-mediated resistance in *Staphylococcus aureus* in a large-scale study. *J Clin Microbiol* 2009; 47:217-9.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01506-08>
13. **Swenson JM, Tenover FC; Cefoxitin Disk Study Group.** Results of disk diffusion testing with cefoxitin correlate with presence of *mecA* in *Staphylococcus* spp. *J Clin Microbiol* 2005; 43:3818-23.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.43.8.3818-3823.2005>
14. **Felten A, Grandy 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.
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.40.8.2766-2771.2002>
15. **Dibah S, Arzanlou M, Jannati E, Shapouri R.** Prevalence and antimicrobial resistance pattern of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated from clinical specimens in Ardabil, Iran. *Iran J Microbiol* 2014; 6:163-8.
16. **Pourmand MR, Hassanzadeh S, Mashhadi R, Askari E.** Comparison of four diagnostic methods for detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Iran J Microbiol* 2014; 6:341-4.
17. **Özel G, Aslan V, Bahar Erdem G, Çağatay M, Şencan İ, Mert A.** Stafilkoklarda metisilin duyarlılığının belirlenmesinde oksasilin, sefoksitin, seftizoksim ve moksalaktam disk difüzyon yöntemlerinin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45:258-65.
18. **Tavakoli H, Bayat M, Kousha A, Panahi P.** The application of chromogenic culture media for rapid detection of food and water borne pathogen. *Am Eurasian J Agric Environ Sci* 2008; 4:693-8.
19. **Uzun B, Karataş Şener AG, Güngör S, Afşar I, Yüksel Ergin O, Demirci M.** *Staphylococcus aureus* suşlarındaki metisilin direncinin belirlenmesinde sefoksitin disk difüzyon testi, otomatize sistem ve kromojenik besiyerinin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2013; 47:11-8.
<http://dx.doi.org/10.5578/mb.4304>
20. **Han Z, Lautenbach E, Fishman N, Nachamkin I.** Evaluation of mannitol salt agar, CHROMagar Staph aureus and CHROMagar MRSA for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from nasal swab specimens. *J Med Microbiol* 2007; 56:43-6.
<http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.46777-0>
21. **Velasco D, del Mar Tomas M, Cartelle M, et al.** Evaluation of different methods for detecting methicillin (oxacillin) resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55:379-82.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dki017>

22. **Ögünç D, Çolak D, Saygan MB, Öngüt G, Saygan S, Gültekin M.** *Staphylococcus aureus* suşlarında oksasilin direncinin saptanmasında E test, sıvı mikrodilüsyon ve disk difüzyon yöntemlerinin karşılaştırılması. *ANKEM Derg* 2001; 15:84-7.
23. **Anand KB, Agrawal P, Kumar S, Kapila K.** Comparison of cefoxitin disc diffusion test, oxacillin screen agar, and PCR for *mecA* gene for detection of MRSA. *Indian J Med Microbiol* 2009; 27:27-9.
24. **Sharma P, Nair D, Singhal S, Hasan A, Aggarwal P.** Determination of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) using several phenotypic methods-a report from a tertiary care center at New Delhi, India. *J Commun Dis* 2011; 43:249-57.
25. **Kali A, Stephen S, Umadevi S.** Laboratory evaluation of phenotypic detection methods of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biomed J* 2014; 37:411-4. <http://dx.doi.org/10.4103/2319-4170.132907>
26. **Alipour F, Ahmadi M, Javadi S.** Evaluation of different methods to detect methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Infect Public Health* 2014; 7:186-91. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiph.2014.01.007>