

Stafilokoklarda Metisilin Duyarlılığının Belirlenmesinde Oksasilin, Sefoksitin, Seftizoksım ve Moksalakam Disk Difüzyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Comparison of Oxacillin, Cefoxitin, Ceftizoxime, and Moxalactam Disk Diffusion Methods for Detection of Methicillin Susceptibility in Staphylococci

Gönül ÖZEL¹, Volkan ASLAN¹, Gül BAHAR ERDEM¹, Mustafa ÇAĞATAY¹, İrfan ŞENCAN², Ali MERT¹

¹ SB Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara.

¹ Ministry of Health Dışkapı Yıldırım Beyazıt Training and Research Hospital, Microbiology and Clinical Microbiology Clinics, Ankara, Turkey.

² SB Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara.

² Ministry of Health Dışkapı Yıldırım Beyazıt Training and Research Hospital, Infectious Diseases and Clinical Microbiology Clinics, Ankara, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 16.08.2010 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 17.01.2011

ÖZET

Stafilokoklarda metisilin direnci, *mecA* geni tarafından kodlanan penisilin bağlayan protein 2a/2' (PBP2a/PBP2') proteininin üretimi sonucu ortaya çıkmaktadır. *mecA* geninin heterojen ekspresyonu nedeniyle, metisilin direncinin fenotipik olarak gösterilmesi halen bir sorun oluşturmaktadır. Polimeraz zincir reaksiyonu ile *mecA* geninin tespit edilmesi altın standart yöntem olmakla birlikte, çoğu laboratuvar da moleküler yöntemlerin çalışılabileceği olanaklar bulunmadığından, metisiline dirençli suşları hızlı ve doğru olarak saptayabilecek, kolay uygulanabilir fenotipik yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, stafilokoklarda metisilin duyarlılığının belirlenmesinde oksasilin (OX), sefoksitin (CFX), seftizoksım (CZX) ve moksalakam (MOX) disk difüzyon yöntemlerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya, hastanede yatan veya ayaktan başvuran hastaların, yara ve yumuşak doku materyali (n= 114), idrar (n= 51), kan (n= 48), solunum yolu (n= 30) ve diğer (n= 4) klinik örneklerinden enfeksiyon etkeni olarak izole edilen 125'i *Staphylococcus aureus*, 122'si koagülaz-negatif stafilokok (KNS) olmak üzere toplam 247 stafilokok suşu alınmıştır. PBP2a lateks aglütinasyon yöntemi, metisilin direncini belirlemede referans yöntem olarak kullanılmış ve dört antibiyotikle yapılan disk difüzyon yönteminin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri hesaplanmıştır. PBP2a lateks aglütinasyon yöntemi ile KNS'lerin 66

İletişim (Correspondence): Dr. Gönül Özel, SB Yozgat Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Merkez/Yozgat, Türkiye.

Tel (Phone): +90 354 212 1070/1160, **E-posta (E-mail):** ozel78@yahoo.com

(%54.1)'sı, *S.aureus*'ların 53 (%42.4)'ü metisiline dirençli bulunmuştur. PBP2a pozitif olan 119 suştan 113 (63 KNS, 50 *S.aureus*)'ü OX ve MOX ile, 110 (60 KNS, 50 *S.aureus*)'u ise CFX ve CZX ile dirençli tespit edilirken; PBP2a negatif olan 128 suştan 123 (52 KNS, 71 *S.aureus*)'ü OX, 127 (55 KNS, 72 *S.aureus*)'sı CFX ve CZX, 126 (54 KNS, 72 *S.aureus*)'sı ise MOX ile duyarlı saptanmıştır. Bu bulgulara göre OX, CFX, CZX ve MOX ile elde edilen duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla; KNS'ler için %95.4 ve %92.8, %90.9 ve %98.2, %90.9 ve %98.2, %95.4 ve %96.4; *S.aureus*'lar için %94.3 ve %98.6, %94.3 ve %100, %94.3 ve %100, %94.3 ve %100 olarak tespit edilmiştir. İstatistiksel değerlendirmede, dört antibiyotik ile uygulanan disk difüzyon testleri arasında duyarlılık ve özgüllük açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Sonuç olarak, fenotipik yöntemlerle metisilin direncinin tespitindeki sorunlar, nedeniyle, *mecA* genini indükleyen farklı antibiyotik disklerinin aynı anda test edilmesi ve diskler arasında uyumsuzluk gözlemlendiğinde moleküler yöntemlere başvurulması önerilmektedir.

Anahtar sözcükler: *Staphylococcus aureus*; koagülaz-negatif stafilocoklar; metisilin; direnç; oksasilin; sefoksitin; seftizoksim; moksalakтам; disk difüzyon.

ABSTRACT

Penicillin binding protein 2a/2' (PBP2a/PBP2') which is encoded by the *mecA* gene, is responsible for the methicillin resistance in staphylococci. Detection of methicillin resistance with phenotypic methods is still a problem especially because of heterogenous expression of *mecA* gene. Although *mecA* gene determination by polymerase chain reaction is considered as the gold standard method, molecular tests are not easily applied in all routine laboratories. Thus, for the rapid and accurate diagnosis of MRSA strains, easy and practical phenotypic tests are still required. This study was conducted to compare the oxacillin (OX), cefoxitin (CFX), ceftizoxime (CZX), and moxolactam (MOX) susceptibility testing by disk diffusion method for the detection of methicillin resistance in staphylococci. A total of 247 staphylococci (125 *Staphylococcus aureus* and 122 coagulase-negative staphylococci; CNS) isolated from various clinical specimens (114 wound and soft tissue materials, 51 urine, 48 blood, 30 respiratory tract, and four other samples) of inpatients and outpatients, were included in this study. PBP2a latex agglutination test was used as the reference method for the recognition of methicillin resistance; four antibiotic disks tested and sensitivity, specificity, positive and negative predictive values (PPV and NPV) were determined for each of them. According to PBP2a latex agglutination test 66 (54.1%) of CNS and 53 (42.4%) of *S.aureus* isolates were found methicillin-resistant. OX and MOX disks detected 113 (63 CNS and 50 *S.aureus*) methicillin-resistant strain out of 119 PBP2a positive isolates, where CFX and CZX disks detected 110 (60 CNS and 50 *S.aureus*) of them. Among 128 PBP2a negative isolates, 123 (52 CNS and 71 *S.aureus*) were detected as susceptible with OX, 127 (55 CNS and 72 *S.aureus*) with CFX and CZX, 126 (54 CNS and 72 *S.aureus*) with MOX. According to these results, the sensitivities and specificities of OX, CFX, CZX, and MOX disks were; 95.4% and 92.8%, 90.9% and 98.2%, 90.9% and 98.2%, 95.4% and 96.4%, respectively for CNS and 94.3% and 98.6%, 94.3% and 100%, 94.3% and 100%, 94.3% and 100%, respectively for *S.aureus*. The difference between sensitivities and specificities of tested antibiotic disks were not found statistically significant. In conclusion, due to the problems in detection of methicillin resistance with phenotypic methods, the use of different *mecA* gene-inducing antibiotic disks at the same time, and utilization of molecular methods as reference method might be suggested, when a discordance is observed between the antibiotic disks.

Key words: *Staphylococcus aureus*; coagulase negative staphylococci; methicillin; resistance; oxacillin; cefoxitin; ceftizoxime; moxalactam; disk diffusion.

GİRİŞ

Günümüzde giderek artan bir öneme sahip olan stafilocoklarda metisilin direnci, *mecA* geni tarafından kodlanan ve penisilin bağlayan protein 2a/2' (PBP2a/PBP2') ola-

rak adlandırılan bir proteinin üretimi sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu modifiye olmuş proteinin beta-laktam grubu antibiyotiklere afinitesi düşük olduğu için, tüm beta-laktam ve beta-laktam türevi antibiyotiklere dirence neden olmaktadır¹⁻⁵. Tanımlandığından bu yana, rutin bakteriyoloji laboratuvarlarında metisilin direncinin tespiti daima sorun teşkil etmiştir^{2,6}. Metisilin direncinin saptanması amacıyla; disk difüzyon, E-test, sıvı mikrodilüsyon yöntemi, oksasilin içeren katı besiyerlerinin kullanıldığı tarama testleri ve *mecA* geni veya onun ürünü olan PBP2a'nın tespit edilmesine dayalı çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Yakın zamanda, direkt klinik örneklerden metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA)'un hızlı tespiti için yeni biyoluminesans saptama teknolojisine dayanan Bact Lite Rapid MRSA ve bunun geliştirilmiş versiyonu olan 3MTM Bac-LiteTM Rapid MRSA yöntemleri de bildirilmiştir^{7,8}. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile *mecA* geni varlığının tespit edilmesi altın standart yöntem olmakla birlikte çoğu laboratuvar da moleküler yöntemlerin çalışılabileceği olanaklar bulunmadığından, hızlı ve doğru olarak metisiline dirençli suşları saptayabilecek, uygulanabilir fenotipik yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır³.

Son yıllarda, gerek yapılan çalışmalarla gerekse "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" tarafından, sefoksitin diskinin *mecA* aracılı oksasilin direncinin gösterilmesinde kullanılabileceği bildirilmiştir^{1,5,9-11}. Araştırmacılar, MRSA suşlarının saptanmasında seftizoksım ve moksalaktam antibiyotiklerinin kullanılmasıyla da iyi sonuçlar elde ettiklerini bildirmektedirler^{4,12-18}.

Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilokok suşlarında PBP2a varlığının gösterilmesi ve metisilin direncinin saptanmasında oksasilin, sefoksitin, seftizoksım ve moksalaktam disklerinin performansının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Nisan 2006-Nisan 2008 tarihleri arasında SB Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 125'i *S.aureus*, 122'si koagülaz-negatif stafilokok (KNS) olmak üzere toplam 247 stafilokok suşu dahil edildi.

Suşlarda PBP2a varlığının araştırılmasında, lateks aglütinasyon (LA) yöntemi esaslı PBP2' test kiti (Oxoid, İngiltere) kullanıldı ve yöntem üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışıldı. Oksasilin (1 µg, Bioanalyse, Türkiye), sefoksitin (30 µg, Oxoid, İngiltere), seftizoksım (30 µg, Bioanalyse, Türkiye) ve moksalaktam (30 µg, Oxoid, İngiltere) antibiyotik duyarlılıkları CLSI önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle araştırıldı ve değerlendirildi¹⁹ (Tablo I). Seftizoksım ve moksalaktam için orta duyarlı olarak bulunan değerler dirençli grubuna dahil edildi. Kontrol suşu olarak *S.aureus* ATCC 25923 ve *S.aureus* ATCC 95047 kullanıldı.

Çalışmada test edilen dört antibiyotik diskinin metisilin direncini saptamadaki duyarlılık, özgülük, pozitif (PPD) ve negatif prediktif değerleri (NPD) hesaplandı. Sonuçlar Fisher'in kesin ki-kare testi ile karşılaştırıldı.

Tablo I. Stafilokoklar İçin Önerilen Zon Çapı Yorumlama Standartları*

Antibiyotikler	Suşlar	Zon çapı (mm)		
		Dirençli	Orta duyarlı	Duyarlı
Oksasilin (1 µg)	<i>S.aureus</i>	≤ 10	11-12	≥ 13
	<i>S.lugdunensis</i> dışındaki KNS'ler	≤ 17	-	≥ 18
Sefoksitin (30 µg)	<i>S.aureus</i> ve <i>S.lugdunensis</i>	≤ 21	-	≥ 22
	<i>S.lugdunensis</i> dışındaki KNS'ler	≤ 24	-	≥ 25
Seftizoksım (30 µg)		≤ 14	15-19	≥ 20
Moksalakтам (30 µg)		≤ 14	15-22	≥ 23

* 19 no'lu kaynaktan alınmıştır.

BULGULAR

Stafilokok suşlarının 145 (%58.7)'i yatan, 102 (%41.3)'si poliklinik hastalarına ait olmak üzere yara ve yumuşak doku materyali (n= 114), idrar (n= 51), kan (n= 48), solunum yolu (n= 30) ve diğer (n= 4) klinik örneklerden izole edilmişlerdir.

PBP2a LA yöntemi ile suşların 128 (%51.8)'i metisiline duyarlı, 119 (%48.2)'u metisiline dirençli olarak saptanmıştır. KNS suşlarının 66 (%54.1)'si ile *S.aureus* suşlarının 53 (%42.4)'ünün metisiline dirençli olduğu belirlenmiştir. PBP2a pozitif olan 119 suştan 113 (63 KNS, 50 *S.aureus*)'ü oksasilin ve moksalakтам, 110 (60 KNS, 50 *S.aureus*)'u ise sefoksitin ve seftizoksime dirençli bulunmuştur. PBP2a negatif olan 128 suştan 123 (52 KNS, 71 *S.aureus*)'ü oksasilin, 127 (55 KNS, 72 *S.aureus*)'si sefoksitin ve seftizoksım, 126 (54 KNS, 72 *S.aureus*)'si ise moksalakтамa duyarlı olarak saptanmıştır.

KNS suşlarının yedisinde sefoksitin zon çapı 22-24 mm arasında bulunmuş ve bu suşlara PYR (pyrrolidonyl arylamidase) testi yapılmıştır. *S.lugdunensis*'in PYR testi pozitif olduğu için, PYR sonuçları negatif saptanan bu yedi suş *S.lugdunensis* dışındaki KNS'ler için kullanılan direnç sınır değerlerine göre değerlendirilerek sefoksitine dirençli kabul edilmiştir²⁰. Toplam 14 suшта antibiyotik duyarlılık sonuçları arasında uyumsuzluk saptanırken, beş suшта da PBP2a testi ile antibiyotik duyarlılık sonuçları arasında uyumsuzluk saptanmıştır (Tablo II).

Çalışmada kullanılan antibiyotik disklerinin, metisilin direncini saptamadaki duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD değerleri Tablo III'te görülmektedir. Test edilen antibiyotik diskleri karşılaştırıldığında duyarlılık ve özgüllük değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

TARTIŞMA

Metisiline dirençli stafilokoklara bağlı olarak gelişen enfeksiyonların erken tanı ve doğru tedavisi büyük önem taşımaktadır^{21,22}. Stafilokoklarda metisilin direncinin belirlenmesinde, PCR ile *mecA* gen varlığının gösterilmesi altın standart olmasına karşın, bu yöntemin her laboratuvarıda uygulanamaması nedeniyle, kolay uygulanabilir diğer yöntemle-

Tablo II. Test Sonuçları Arasında Uyumsuzluk Saptanan Stafilokok Suşlarına Ait Bulgular (n= 19)

İzolatlar	Suş sayısı	PBP2a	Oksasilin	Sefoksitin	Seftizoksım	Moksalaktam
<i>S.aureus</i>	3	+	S	S	S	S
	1	-	R	S	S	S
KNS	2	+	S	S	S	S
	1	+	S	R	R	R
	1	+	R	S	S	R
	1	+	R	S	R	S
	3	+	R	R	S	R
	2	+	R	S	R	R
	1	-	R	R	S	R
	1	-	R	S	S	R
	2	-	R	S	S	S
	1	-	S	S	R	S

KNS: Koagülaz-negatif stafilokoklar, +: Pozitif, -: Negatif, R: Dirençli, S: Duyarlı.

Tablo III. Metisilin Direncini Saptamada Oksasilin, Sefoksitin, Seftizoksım ve Moksalaktam Disk Difüzyon Yöntemlerinin Performansları

Antibiyotik	Duyarlılık (%)		Özgüllük (%)		PPD (%)		NPD (%)	
	KNS	<i>S.aureus</i>	KNS	<i>S.aureus</i>	KNS	<i>S.aureus</i>	KNS	<i>S.aureus</i>
Oksasilin	95.4	94.3	92.8	98.6	94.0	98.0	94.5	95.9
Sefoksitin	90.9	94.3	98.2	100.0	98.3	100.0	90.1	96.0
Seftizoksım	90.9	94.3	98.2	100.0	98.3	100.0	90.1	96.0
Moksalaktam	95.4	94.3	96.4	100.0	96.9	100.0	94.7	96.0

KNS: Koagülaz-negatif stafilokoklar, PPD: Pozitif prediktif değer, NPD: Negatif prediktif değer.

rin duyarlılık ve özgüllükleri ile ilgili araştırmalar önem kazanmıştır^{3,5,6,9,11,23}. Yapılan çalışmalarda, LA yöntemi ile PBP2a saptanmasının, PCR ile *mecA* tespitinin yerini tutmаса da, *S.aureus* ve KNS suşlarında disk difüzyon ile karşılaşılan karışıklıkları çözmek için kullanılabilecek oldukça duyarlı ve özgül bir yöntem olduğu belirtilmektedir^{3,10,11,14,17,24-27}. Çeşitli araştırmacılar, LA yönteminin duyarlılığını %100, özgüllüğünü ise %96-100 arasında vermekte ve referans yöntem olarak kullanılabileceğini ifade etmektedirler^{3,4,9,13,17,24,25}. Velasco ve arkadaşlarının³ çalışmasında, 102 *S.aureus* suşunda metisilin direncini tespit etmek için iki farklı PBP2a aglütinasyon kiti denenmiş ve her ikisinin de duyarlılığı %100, özgüllüğü %96, NPD'si %100, PPD'si %96.2 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da, kolay uygulanabilir ve ekonomik olması nedeniyle LA yöntemi, metisilin direncinin saptanmasında referans yöntem olarak kabul edilmiştir.

Zhu ve arkadaşlarının¹, 178'i *S.aureus* ve 237'si KNS olan toplam 415 stafilkok izolatında 30 µg sefoksitin (CFX) diski ile 1 µg oksasilin (OX) diskini karşılaştırdığı çalışmada, *S.aureus*'larda OX ve CFX disklerinin duyarlılıkları sırasıyla %97.5 ve %96.6, özgüllükleri ise %98.3 ve %94.9 olarak saptanmasına karşın, KNS'lerde OX diskinin duyarlılığı (%83.4) ve özgüllüğü (%76.3) CFX diskiye göre düşük bulunmuştur. Çoban ve arkadaşları⁹, 94 klinik *S.aureus* izolatında CFX diski ile OX mikrodilüsyon ve agar tarama yöntemlerini karşılaştırmışlar ve CFX disk difüzyon testinin özgüllük ve duyarlılığını %100 olarak saptamışlardır. Çalışmamızda da *S.aureus* için CFX'in metisilin direncini tespit etmedeki özgüllüğü, Çoban ve arkadaşlarının çalışması ile uyumlu olarak %100 bulunmasına karşın, duyarlılığı daha düşük (%94.3) saptanmıştır.

Wagenvoort ve arkadaşları¹², CFX ve seftizoksim (CZX) disklerinin performansını farklı test koşullarında (%2 NaCl içeren ve içermeyen besiyeri ile 30°C'de ve 37°C'de) değerlendirmişler ve metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA) suşları için tüm koşullarda her iki antibiyotik diskinin duyarlılığının aynı olduğunu; buna karşın MRSA'larda besiyerine NaCl eklenmesiyle her iki sıcaklıkta da CZX diskinin kenarına kadar üremenin inhibe edildiğini ve böylece CZX disk difüzyon yöntemiyle daha iyi sonuçlar elde edildiğini bildirmişlerdir. MRSA'larda CFX diski ile 14-22 mm arası inhibisyon zon çapları izlendiği için CFX diski kullanıldığında zon çaplarının dikkatlice ölçülmesi gerektiği, ancak CZX ile zon çapı oluşmadığı için ilk bakışta suşun metisiline dirençli olduğunun anlaşılabilirdiği vurgulanmıştır¹². Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlara göre, 30°C'de ve 24 saat süreli inkübasyon koşullarında CZX diskinin, metisilin direncinin taranmasında faydalı olabileceğini ifade etmişler ve bu konunun daha fazla çalışma yapmaya değer olduğunu belirtmişlerdir¹². MRSA suşlarında CZX diski etrafında inhibisyon zonunun oluşmaması daha önce Tosaka ve arkadaşları²⁸ tarafından da bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise *S.aureus*'larda metisilin direncinin saptanmasında CZX'in diğer disklere bir üstünlüğü gözlenmemiştir. On iki KNS suşunda CFX ve moksalaktam (MOX) ile zon çapı oluşurken, OX ve CZX ile zon çapı oluşmadığı gözlenmiştir. Beş KNS izolatında da sadece CZX'de zon çapı oluşmadığı görülmüş, ancak diğer iki çalışmada belirtildiği gibi göze çarpan belirgin bir fark elde edilmemiştir.

Join-Lambert ve arkadaşları¹³, 192 KNS izolatında metisilin direncini saptamak amacıyla yüksek ve düşük inokulum kullanarak disk difüzyon yöntemiyle CFX ve MOX duyarlılığını araştırmışlar, denenen yöntemlerin hepsinin KNS'lerdeki metisilin direncini saptamada benzer performansa sahip olduğunu belirtmişlerdir. Buna karşın araştırmacılar, MOX'un heterodirençli suşları PBP2a negatif suşlardan ayırmada daha üstün olduğu sonucuna varmışlar ve kombine olarak CFX-MOX disklerinin kullanılmasını, heterodirençli izolatları tanımlamada uygun alternatif bir yöntem olarak önermişlerdir¹³. Pupin ve arkadaşları¹⁸ ise 186 KNS izolatı ile yaptıkları çalışmada, MOX'un *mecA* pozitif suşlarda metisilin direncini saptamada OX ve CFX'e göre daha başarılı olduğunu belirtmişlerdir¹⁸.

Bizim çalışmamızda, hem *S.aureus* hem de KNS suşlarında CFX diskinin özgüllüğü OX diskinden daha yüksek olarak saptanmıştır (sırasıyla; %100, %98.6 ve %98.2, %92.8). *S.aureus* için CFX ve OX duyarlılığı birbirine eşit iken (%94.3), KNS'ler için OX

daha duyarlı bulunmuştur (%90.9, %95.4). Dört antibiyotik diski karşılaştırıldığında; KNS'ler için en yüksek duyarlılığa sahip antibiyotikler OX ve MOX (%95.4) iken, en yüksek özgüllüğe sahip antibiyotikler CFX ve CZX (%98.2) olarak belirlenmiştir. *S.aureus* için ise, dört antibiyotik diskinin de duyarlılıkları birbirine eşit (%94.3) olarak bulunmuş; CFX, CZX ve MOX ile %100 özgüllük elde edilirken, OX ile %98.6 özgüllük saptanmıştır. Tüm stafilokok izolatları birlikte değerlendirildiğinde de; KNS'lerde olduğu gibi en yüksek duyarlılık (%94.9) OX ve MOX ile, en yüksek özgüllük (%99.2) ise CFX ve CZX ile elde edilmiştir.

Sonuç olarak, stafilokoklarda metisilin direncinin fenotipik yöntemlerle gösterilmesi, özellikle heterojen metisilin direnci varlığı ve bu direncin de çevresel faktörlerden etkileneceği nedeniyle, halen çözüme ulaştırılamamış bir problemdir. Dolayısıyla, bu konu açıklık kazanıncaya kadar moleküler inceleme yapılamayan laboratuvarlarda, metisilin direncini tespit etmek için stafilokok suşlarının *mecA* genini indükleyen farklı antibiyotik diskleri ile aynı anda test edilmesi ve uyumsuz sonuçlar alınması halinde, direncin moleküler yöntemlerle referans laboratuvarlarda araştırılması uygun olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Zhu LX, Zhang ZW, Wang C, Yang HW, Zhang Q, Cheng J. Evaluation of the CLSI cefoxitin 30-microg disk-diffusion method for detecting methicillin resistance in staphylococci. Clin Microbiol Infect 2006; 12(10): 1039-42.
2. Perez LR, Antunes AL, Barth AL, d'Azevedo PA. Variations of agar screen tests for detection of methicillin resistance in staphylococci: focus on cefoxitin. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2007; 26(4): 267-70.
3. 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(3): 379-82.
4. Felten A, Grandry B, Langrange 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(8): 2766-71.
5. Bosgelmez-Tinaz G, Ulusoy S, Aridogan B, Coskun-Ari F. Evaluation of different methods to detect oxacillin resistance in *Staphylococcus aureus* and their clinical laboratory utility. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2006; 25(6): 410-2.
6. Witte W, Pasemann B, Cuny C. Detection of low-level oxacillin resistance in *mecA*-positive *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Infect 2007; 13(4): 408-12.
7. Johnson G, Millar MR, Matthews S, et al. Evaluation of BacLite Rapid MRSA, a rapid culture based screening test for the detection of ciprofloxacin and methicillin resistant *S.aureus* (MRSA) from screening swabs. BMC Microbiol 2006; 6: 83.
8. von Eiff C, Maas D, Sander G, Friedrich AW, Peters G, Becker K. Microbiological evaluation of a new growth-based approach for rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother 2008; 61(6): 1277-80.
9. Coban AY, Darka O, Tasdelen Fisgin N, et al. Short communication: use of cefoxitin disc diffusion method for the detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* clinical isolates. Mikrobiyol Bul 2007; 41(1): 109-13.
10. Swenson JM, Skov R, Patel JB. The cefoxitin disk test-what a clinical microbiologist needs to know. Clinical Microbiology Newsletter 2007; 29(5): 33-40.
11. Andrews J, Brenwald N, Brown DF, et al. Evaluation of a 10 {micro}g cefoxitin disc for the detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* by BSAC methodology. J Antimicrob Chemother 2005; 56(3): 599-600.

12. Wagenvoort JH, Ciraci VE, Penders RJ, Gronenschild JH, De Brauwier EI, Goessens WH. Superior discriminative performance of ceftizoxime disk diffusion test for detecting methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2006; 25(6): 405-6.
13. Join-Lambert OF, Clauser S, Guillet C, et al. Comparison of cefoxitin and moxalactam 30 microg disc diffusion methods for detection of methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci. J Antimicrob Chemother 2007; 59(4): 763-6.
14. Pottumarthy S, Fritsche TR, Jones RN. Evaluation of alternative disk diffusion methods for detecting mecA-mediated oxacillin resistance in an international collection of staphylococci: validation report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. Diagn Microbiol Infect Dis 2005; 51(1): 57-62.
15. Marshall SA, Wilke WW, Pfaller MA, Jones RN. *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci from blood stream infections: frequency of occurrence, antimicrobial susceptibility, and molecular (mecA) characterization of oxacillin resistance in the SCOPE program. Diagn Microbiol Infect Dis 1998; 30(3): 205-14.
16. Cormican MG, Wilke WW, Barrett MS, Pfaller MA, Jones RN. Phenotypic detection of mecA-positive staphylococcal blood stream isolates: high accuracy of simple disk diffusion tests. Diagn Microbiol Infect Dis 1996; 25(3): 107-12.
17. Stepanovic S, Hauschild T, Dakic I, et al. Evaluation of phenotypic and molecular methods for detection of oxacillin resistance in members of the *Staphylococcus sciuri* group. J Clin Microbiol 2006; 44(3): 934-7.
18. Pupin H, Renaudin H, Join-Lambert O, Bébéar C, Mégraud F, Lehours P. Evaluation of moxalactam with the BD phoenix system for detection of methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci. J Clin Microbiol 2007; 45(6): 2005-8.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 18th Informational Supplement. Document M100-S18, 2008. CLSI, Wayne, Pennsylvania.
20. Winn W, Allen S, Janda W, et al. Staphylococci and related gram-positive cocci, pp: 651-2. In: Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 2006, 6th (ed). Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
21. Udo EE, Mokadas EM, Al-Haddad A, Mathew B, Jacob LE, Sanyal SC. Rapid detection of methicillin resistance in staphylococci using a slide latex agglutination kit. Int J Antimicrob Agents 2000; 15(1): 19-24.
22. Brayshaw DP. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: evaluation of detection techniques on laboratory-passaged organisms. Br J Biomed Sci 1999; 56(3): 170-6.
23. Akcam FZ, Tinaz GB, Kaya O, Tigli A, Ture E, Hosoglu S. Evaluation of methicillin resistance by cefoxitin disk diffusion and PBP2a latex agglutination test in mecA-positive *Staphylococcus aureus*, and comparison of mecA with femA, femB, femX positivities. Microbiol Res 2009; 164(4): 400-3.
24. Cavassini M, Wenger A, Jatton K, Blanc DS, Bille J. Evaluation of MRSA-Screen, a simple anti-PBP 2a slide latex agglutination kit, for rapid detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 1999; 37(5):1591-4.
25. Louie L, Matsumura SO, Choi E, Louie M, Simor AE. Evaluation of three rapid methods for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 2000; 38(6): 2170-3.
26. Sancak B. *Staphylococcus aureus*'ta metisilin ve vankomisin direnci. Hacettepe Tıp Dergisi 2007; 38(3): 127-34.
27. Baddour MM, AbuElKheir MM, Fatani AJ. Comparison of mecA polymerase chain reaction with phenotypic methods for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Curr Microbiol 2007; 55(6): 473-9.
28. Tosaka M, Omoto Y, Kiyota T, et al. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by the Showa disk. Rinsho Byori 1991; 39(5): 548-56.