

Staphylococcus aureus Suşlarında Metisilin Direncinin Klasik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması

Detection of Methicillin Resistance in Staphylococcus aureus Isolates by Classical and Molecular Methods

Hayrunisa Hancı¹, Ahmet Ayyıldız², Mustafa Özkan Baltacı³, Hakan İgan⁴, Muhammet Hamidullah Uyanık², Ahmet Adıgüzel³

¹Atatürk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

²Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

³Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Erzurum, Türkiye

⁴Palandöken Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Erzurum, Türkiye

Özet

Amaç: Bu çalışmanın amacı, *Staphylococcus aureus* suşlarında metisilin direncinin belirlenmesinde kullanılan çeşitli klasik yöntemlerle genotipik bir yöntem olan *mecA* geni varlığının kıyaslanmasıdır.

Yöntemler: Çalışmaya çeşitli klinik örneklerden izole edilen 86 metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) ve 30 metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) suşu dahil edildi. Suşların metisilin dirençleri oksasilin ve sefoksitin disk difüzyon testiyle belirlendi. Metisilin direnci için MRSA kromojenik agarda kolonilerin üreyip üremediklerine bakıldı. Polimeraz zincir reaksiyonuyla araştırılan *mecA* geni varlığı altın standard test olarak kabul edildi ve diğer sonuçların duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer (PPD) ve negatif prediktif değer (NPD)'leri buna göre hesaplandı.

Bulgular: Duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD yüzdeleri sefoksitin disk difüzyon testi için sırasıyla %98.7, %81.6, %91.7, %96.9; oksasilin disk difüzyon testi için sırasıyla %100, %78.9, %90.7, %100; MRSA kromojenik agar 24. saatlik değerlendirme için sırasıyla %45.8, %63.2, %70.2, %38.0; 48. saatlik değerlendirme için sırasıyla %51.4, %63.2, %72.5, %40.7 idi.

Sonuçlar: MRSA sorununun yüksek olduğu hastanelerde gerekli önlemlerin alınabilmesi açısından *mecA* geninin araştırılması en doğru sonuca ulaşmada önemlidir. Sefoksitin ve oksasilin disk difüzyon yöntemleri sonuçları birbirine yakın bulunduğundan sefoksitin diski olmadığı durumlarda oksasilinin de bir alternatif olabileceğini düşünmekteyiz. MRSA saptanması için kromojenik agarın kullanılması durumunda ihtiyatlı davranılması uygun olacaktır. *Klimik Dergisi 2018; 31(1): 30-3.*

Anahtar Sözcükler: Sefoksitin, kromojenik agar, *mecA*, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, oksasilin.

Abstract

Objective: This study was planned to detect methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* strains by conventional phenotypic methods and polymerase chain reaction for *mecA* gene and to compare the results of these tests for their sensitivity and specificity.

Methods: Eighty six methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) and 30 methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA) strains from various clinical samples were included in this study. Methicillin resistance was detected by oxacillin and cefoxitin disk diffusion method. Presence of colonies on MRSA chromogenic agar was looked for methicillin resistance. The presence of the *mecA* gene investigated by polymerase chain reaction is considered to be the gold standard test, and sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) were calculated accordingly.

Results: The percentage of sensitivity, specificity, PPV and NPV were 98.7%, 81.6%, 91.7%, 96.9% for the cefoxitin disk diffusion test, respectively; 100%, 78.9%, 90.7%, 100% for the oxacillin disk diffusion test, respectively; 45.8%, 63.2%, 70.2%, 38.0% for the 24-hour evaluation MRSA chromogenic agar, respectively; 51.4%, 63.2%, 72.5%, 40.7% for the 48-hour evaluation, respectively.

Conclusions: Investigation of *mecA* is crucial for taking the necessary precautions in hospitals where the MRSA is a common problem. The results for cefoxitin and oxacillin disk diffusion method were found close to each other; hence, we think that oxacillin disk can be an alternative instead of cefoxitin disk. Results based on chromogenic agar should be interpreted with caution. *Klimik Dergisi 2018; 31(1): 30-3.*

Key Words: Cefoxitin, chromogenic agar, *mecA*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, oxacillin.

Cite this article as: Hancı H, Ayyıldız A, Baltacı MÖ, İgan H, Uyanık MH, Adıgüzel A. [Detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates by classical and molecular methods]. *Klimik Derg.* 2018; 31(1): 30-3. Turkish.

Yazışma Adresi / Address for Correspondence:

Hayrunisa Hancı, Atatürk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

E-posta/E-mail: hayrunisa.hanci@hotmail.com

(Geliş / Received: 5 Ocak / January 2017; Kabul / Accepted: 22 Temmuz / July 2017)

DOI: 10.5152/kd.2018.09



Giriş

Staphylococcus aureus önemli bir fırsatçı patojen olup hastane ve toplum kaynaklı bakteriyemi, pnömoni, deri ve yumuşak doku infeksiyonlarından sorumludur (1,2). Çoklu dirençle öne çıkan metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA)'larda metisilin direncini belirlemede kullanılan yöntemin rutin laboratuvarlarda güvenilir, kolay uygulanabilir olması ve çabuk sonuç vermesi çok önemlidir (3).

MRSA saptanmasında *mecA* ya da *mecA* tarafından kodlanan penisilin bağlayan protein 2a (PBP2a)'nın tespiti en güvenilir metodlardır (4). Metisilin direncinin fenotipik testlerle araştırılmasında ortaya çıkan sorunların temelinde MRSA direncinin genellikle heterojen olması yatmaktadır. Direnç tespitinde güvenilirliği yükseltmek amacıyla inokulum miktarının artırılması, besiyerindeki NaCl konsantrasyonunun yükseltilmesi, inkübasyon süresinin uzatılması ve düşük sıcaklıkta inkübasyon gibi bazı değişiklikler yapılmıştır (5,6).

Önceki yıllarda metisilin direncinin belirlenmesi amacıyla oksasilin disk difüzyon testi uygulanmasına rağmen Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2008 yılından sonra sefoksitin disk difüzyon testini önermektedir. Oksasilin disk difüzyon testi sonucunda orta düzeyde bir duyarlılık mevcutsa, *mecA* veya PBP2a testi, sefoksitin disk difüzyon testi, oksasilin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) testi veya oksasilin agar tarama testi uygulanması önerilmektedir (7). Disk difüzyon testinin duyarlılık ve özgüllüğünün çalışmalar arasında farklılık göstermesi bu testin kullanılabilirliği tartışmalarını da beraberinde getirmiştir. Tedavi sorununun yaşandığı hastalarda direncin saptanamadığı düşüncesiyle özellikle *mecA* geninin varlığının araştırılması önerilmiştir (3).

Bu çalışmada Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen MRSA suşlarında sefoksitin disk difüzyon, oksasilin disk difüzyon ve kromojenik agar testlerinin sonuçlarının metisilin direncini saptamada altın standard olan *mecA* geni varlığıyla kıyaslanması amaçlanmıştır.

Yöntemler

Çalışmaya Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 86'sı metisiline dirençli ve 30'u metisiline duyarlı olmak üzere toplam 116 *S. aureus* suşu dahil edildi. Suşların metisilin dirençleri 30 µg sefoksitin (Bioanalyse, Ankara, Türkiye) ve 1 µg oksasilin (Bioanalyse, Ankara, Türkiye) diski kullanılarak Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) direktifleri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi kullanılarak saptandı. Zon çapı oksasilin için ≥13 mm, sefoksitin için ≥ 22 mm olan suşlar metisiline duyarlı, bu değerlerin altında olan suşlar dirençli kabul edildi (8,9).

Çalışmada kullanılan suşların tümü (86 MRSA ve 30 MSSA) CHROMagar™ Staph aureus (CHROMagar, Paris, Fransa)'a ekildi ve plaklar 37°C'de inkübe edildi. Sonuçlar üretici firmanın önerileri doğrultusunda 24 ve 48 saatlik inkübasyonların ardından değerlendirildi. Menekşe pembesi renginde koloni oluşturan suşlar MRSA olarak kabul edildi. Üreme olmaması veya renksiz kolonilerin oluşması metisilin direncinin negatif olduğu yönünde değerlendirildi.

Metisilin direncinden sorumlu *mecA* geninin varlığını belirlemek için daha önce Geha ve arkadaşları (10)'nın çalışmalarında kullandıkları primerler (*mecA1* için 5'- GTA GAA ATG ACT GAA CGT CCG ATA A ve *mecA2* için 5'-CCA ATT CCA CAT TGT TTC GGT CTA A) (İntek Moleküler Biyoloji Sentez Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye) kullanıldı. PCR işleminin sonrasında 310 bp'lik ürün varlığı *mecA* geni varlığı açısından pozitif olarak değerlendirildi.

MRSA saptanmasında kullanılan yöntemlere ait duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer (PPD) ve negatif prediktif değer (NPD) *mecA* geni varlığı referans alınarak hesaplandı.

Bulgular

mecA geni varlığını araştırmak amacıyla yapılan PCR çalışmasında rutin fenotipik yöntemle MRSA olarak tanımlanan 86 suştan 8 (%9.3)'inde *mecA* geni bulunamadı. Kontrol amaçlı kullanılan 30 MSSA suşunun tümü (%100) *mecA* geni açısından negatifti.

Sefoksitin sonuçlarına bakıldığında *mecA* geni bulunmayan 8 MRSA suşundan 1 tanesi sefoksitine duyarlı iken 7 tanesinin dirençli olduğu görüldü. Ayrıca sefoksitine duyarlı olduğu halde oksasiline dirençli olduğu tespit edilen bir diğer suşta da *mecA* geni bulunduğu görüldü. MSSA suşlarının tümü (%100) sefoksitine duyarlı idi.

Oksasilin duyarlılığı ve *mecA* gen varlığı kıyaslandığında *mecA* geni bulunmayan 8 suş da dahil olmak üzere 86 MRSA suşunun tümünün (%100) oksasiline dirençli, MSSA suşlarının da tamamının (%100) duyarlı olduğu tespit edildi.

MRSA kromojenik agarla yapılan çalışmada, ilk 24 saatlik inkübasyondan sonra yapılan değerlendirmede MRSA suşlarından 41 (%47.7)'inde üreme olduğu ve 45 (%52.3)'inde üreme olmadığı görüldü. 48 saatlik inkübasyon sonrasında 4 suşta daha üreme gözlemlendi ve toplam üreme gösteren suş sayısı 45 (%52.3) oldu. Üreyen suşlardan 2 tanesinin *mecA* genine sahip olmadığı tespit edildi. MSSA suşlarında 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonuçları aynı idi. 12 (%40) suşta üreme gözlenirken 18 (%60) suşta üreme olmadı.

Bu sonuçlar ışığında *mecA* gen varlığı altın standard olarak alınarak testlerin duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD'leri hesaplanmış olup sonuçlar Tablo 1'de görülmektedir.

İrdeleme

Dünya genelinde toplum ve hastane kaynaklı infeksiyonlara neden olan en önemli etkenlerden biri olan *S. aureus*'ta özellikle yoğun bakım ünitelerinden olmak üzere giderek artan oranlarda metisilin direnci bildirilmektedir (11).

Tablo 1. Testlerin Duyarlılık, Özgüllük, Pozitif Prediktif Değer ve Negatif Prediktif Değer Sonuçları

Testler	Duyarlılık %	Özgüllük %	PPD %	NPD %
Sefoksitin disk difüzyon testi	98.7	81.6	91.7	96.9
Oksasilin disk difüzyon testi	100	78.9	90.7	100.0
MRSA kromojenik agar 24. saat	45.8	63.2	70.2	38.0
MRSA kromojenik agar 48. saat	51.4	63.2	72.5	40.7

PPD: pozitif prediktif değer, NPD: negatif prediktif değer.

Stafilokoklardaki metisilin direncinin sorumlusu, *mecA* geninin kodladığı penisilin bağlayıcı protein 2a (PBP2a/PBP2') adı verilen bir proteindir. Bu modifiye proteinin β -laktam grubu antibiyotiklere karşı afinitesi az olduğundan dolayı, β -laktam ve β -laktam türevi olan tüm antibiyotiklere karşı direnç ortaya çıkmaktadır (12). MRSA izolatlarının hemen hemen tümünde *mecA* geninin kodladığı penisilin bağlayan protein 2a (PBP2a) üretilir. MRSA saptanmasında *mecA* ya da *mecA*'nın kodladığı PBP2a'nın tespiti en kesin metodlardır (4).

Sefoksitin, stafilokok PBP4'üne de yüksek afinite gösterir ve yapılan çalışmalarda PBP2 ve PBP4 arasında yakın ilişki olduğu gösterilmiştir. Pek çok çalışmada, sefoksitin disklerinin stafilokoklarda heterojen metisilin direncini ortaya koymada, yüksek duyarlılık (%97-100) ve özgüllük (% 99-100) gösterdiği belirtilmiştir (5-14).

CLSI, *mecA* genine bağlı metisilin direncini saptamada tarama testi olarak sefoksitin disk difüzyon testini önermektedir (8). Telli ve arkadaşları (6) *mecA* genine sahip 181 suştan üçünü sefoksitine duyarlı, *mecA* geni bulunmayan 119 suştan birini sefoksitine dirençli olarak bulmuşlardır. Bu sonuçlara göre sefoksitin disk difüzyonu için duyarlılık %98, özgüllük %99, PPD %99 ve NPD %98 olarak bulunmuştur. Farklı çalışmalarda sefoksitin disk difüzyon testi için duyarlılık sonuçlarının %94-100, özgüllük sonuçlarının %98-100, pozitif ve negatif prediktif değerlerin %97-100 aralıklarında olduğu bildirilmiştir (4,12,15-17). Çalışmalarda, MRSA tespitinde sefoksitinden önce kullanılan oksasilin disk difüzyon sonuçları da değerlendirilmiş ve oksasilin için de sefoksitine benzer oranlarda güvenilirlik sonuçları elde edilmiştir (4,15,18). Sefoksitin ve oksasilin disk difüzyon testi duyarlılık ve özgüllük değerlerimizin diğer çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür. Sefoksitin ve oksasilin disk difüzyon yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllüklerinin birbirine yakın oranlarda olması sefoksitin diski olmadığı durumlarda oksasilinin de bir alternatif olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda fenotipik yöntemlerden oksasilin disk difüzyon testiyle MRSA olduğunu tespit ettiğimiz 8 suşta, sefoksitin disk difüzyon testiyle MRSA olduğunu tespit ettiğimiz 7 suşta *mecA* geni negatifti. Yöntemler arasında ortaya çıkan bu uyumsuzluk dirençli *S. aureus* suşlarında β -laktamazın aşırı üretimine, PBP'lerdeki (özellikle PBP2' ve PBP4) nokta mutasyonlarına veya PBP4'ün (düşük molekül ağırlıklı PBP) aşırı yapımına bağlanabilir (19). Bu durumun bir diğer sorumlusu son zamanlarda keşfedilen ve *mecA* ile %70 benzerlik gösteren *mecC* adı verilen gen de olabilir. Çalışmalarda *mecC* geninin PBP2a benzeri bir PBP kodlayarak metisilin direncine neden olduğu gösterilmiştir (20). Çalışmamızdaki bir başka suş ise oksasilin disk difüzyon testiyle dirençli, sefoksitin disk difüzyon testiyle duyarlı bulunmuş ve bu suşun *mecA* pozitif olduğu belirlenmiştir. Peksel (13)'in çalışmasında da *mecA* pozitif olduğu halde sefoksitine duyarlı çıkan üç suş bulunmaktadır. Bu sonucu doğuran mekanizmanın, mevcut *mecA* geniyle düşük düzeyde PBP2a üretilirken, sefoksitin bakterisid etkisini hücre duvarında daha fazla miktarda bulunabilen PBP4'ler aracılığıyla yapması olduğu düşünülmüştür. Bu durumda suşlar yüksek oksasilin MK değerlerine sahip olduğu halde sefoksitine duyarlıdır.

MRSA'nın laboratuvarlarda konvansiyonel yöntemlerle tespit edilmesi 2-4 gün kadar sürebilmektedir. Ancak taşıyıcı izolasyonu ve direkt temasın azaltılabilmesi için MRSA'nın hızla tespit edilmesi önemlidir. *S. aureus*'ün hızlı tespiti ve metisilin direncinin belirlenmesinde kromojenik besiyerleri kullanılabilir. Bu besiyerleri MRSA tespitini hızlı ve ekonomik bir şekilde yapabildiğinden önemli avantajlar sağlamaktadır (21). Çalışmamızda, kromojenik besiyeri için 48 saat sonundaki duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD değerlerinin ilk 24 saate göre az da olsa daha yüksek olduğu görüldü. Bu durum kromojenik besiyeriyle yapılacak çalışmalarda 48 saatlik inkübasyonun daha güvenilir olduğunu göstermektedir. Çalışmalarda kromojenik besiyerlerinin duyarlılık ve özgüllüklerinin %60-100 arasında değiştiği bildirilmiştir (21-25). Çalışmamızda ise 24 ve 48 saatlik inkübasyonlarda duyarlılık düşük bulunmuş olup bulgularımızın diğer literatür bulgularına uymadığı görülmüştür. Bu oranlar kromojenik agarın MRSA saptanmasında yetersiz kaldığını göstermektedir. Kromojenik agar her ne kadar tarama amaçlı kültürlerde kullanım kolaylığı sağlasa da hatalı sonuç verme ihtimali yüksek olduğundan dikkatle kullanılmalı ve sonuçları disk difüzyon gibi güvenilir bir yöntemle doğrulanmalıdır.

Dünyada ulusal düzeyde duyarlılık standartlarının oluşturulduğu farklı kuruluşlar bulunmaktadır ve bu kuruluşların kriterleri de birbirlerinden farklılıklar göstermektedir. Örneğin CLSI, *S. aureus* için duyarlılık zon çaplarını oksasilin ve sefoksitin için sırasıyla ≥ 13 ve ≥ 22 mm olarak verirken, British Society of Antimicrobial Chemotherapy (BSAC) ≥ 15 ve ≥ 22 mm, Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM) ≥ 20 ve ≥ 27 mm olarak kabul etmiştir. Swedish Reference Group for Antibiotics (SRGA) ve The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) ise oksasilini önermeyip sefoksitin için duyarlılık zon çapını ≥ 22 mm olarak vermiştir (7,8,13,26-28). Görüldüğü gibi farklı kuruluşlar farklı yöntemleri önerebilmekte veya aynı yöntem bile olsa farklı kriterler verebilmektedirler. Bunun yanı sıra daha önceki çalışmaların ve bizim çalışmamızın sonuçlarından da görüldüğü gibi hem oksasilin hem de sefoksitin disk difüzyon testlerinde yalancı pozitiflik veya yalancı negatiflik gibi sonuçlarla karşılaşılabilir. Ülkemizde CLSI standartları yaygın olarak kullanılmakta olup EUCAST'a geçiş süreci başlatılmıştır. Ancak bu standartların farklı ülkelere ait olduğu ve antibiyotik duyarlılıklarının coğrafi ve epidemiyolojik farklılıklar gösterebileceği düşünüldüğünde ülkemize ait verilerin de gözden geçirilmesi ve dikkate alınması uygun olacaktır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Kaynaklar

- Shittu A, Oyedara O, Abegunrin F, et al. Characterization of methicillin-susceptible and -resistant staphylococci in the clinical setting: a multicentre study in Nigeria. *BMC Infect Dis.* 2012; 12: 286. [CrossRef]
- Maina EK, Kiiyukia C, Wamae CN, Waiyaki PG, Kariuki S. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from skin and soft tissue infections in patients in Nairobi, Kenya. *Int J Infect Dis.* 2013; 17(2): 115-9. [CrossRef]

3. Çiftçi İH, Altındış M, Çetinkaya Z, Aşık G, Aktepe OC. Klinik örneklerden izole edilen stafilkoklarda *mecA* varlığının araştırılması. *Kocatepe Tıp Derg.* 2009; 10(1): 17-20.
4. Vural A, Afşar I, Kurultay N, Demirci M. *Staphylococcus aureus*'da metisilin direncinin saptanmasında disk difüzyon, oksasilin agar tarama, mikrodilüsyon ve PBP2A lateks aglütinasyon testlerinin karşılaştırılması. *Ankem Derg.* 2011; 25(3): 145-9. [CrossRef]
5. 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(8): 2766-71. [CrossRef]
6. Telli M, Sümerkan B, Eşel D. *Staphylococcus aureus*'ta metisilin direncinin belirlenmesinde sefoksitin disk, oksasilin disk, oksasilin agar tarama ve PBP2a lateks testlerinin karşılaştırılması. *İnfeksiyon Derg.* 2006; 20(2): 93-6.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 18th Informational Supplement.* CLSI Document M100-S18, Wayne, PA: CLSI, 2008.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Second Informational Supplement.* M100-S22, Wayne, PA: CLSI, 2012.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Seventeenth Informational Supplement,* M100-S17, Wayne, PA: CLSI, 2007.
10. Geha DJ, Uhl JR, Gustaferrero CA, Persing DH. Multiplex PCR for identification of methicillin-resistant staphylococci in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol.* 1994; 32(7): 1768-72.
11. Sancak B. *Staphylococcus aureus* ve antibiyotik direnci. *Mikrobiyol Bül.* 2011; 45(3): 565-76.
12. Uzun B, Karataş Şener AG, Güngör S, Afşar I, Yüksel Ergin Ö, Demirci M. *Staphylococcus aureus* suşlarındaki metisilin direncinin belirlenmesinde sefoksitin disk difüzyon testi, otomatize sistem ve kromojenik besiyerinin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bül.* 2013; 47(1): 11-8. [CrossRef]
13. Peksel H. *Hastane Kökenli Koagülaz Negatif Stafilkokok Suşlarında Oksasilin Direncinin Moleküler ve Geleneksel Yöntemlerle Araştırılması* [Uzmanlık Tezi]. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 2006.
14. 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(5): 389-92. [CrossRef]
15. 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. [CrossRef]
16. 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 Bül.* 2011; 45(2): 258-65.
17. Boutiba-Ben Boubaker I, Ben Abbes R, Ben Abdallah H, et al. Evaluation of a cefoxitin disk diffusion test for the routine detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect.* 2004; 10(8): 762-5. [CrossRef]
18. 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(1): 27-9.
19. Turaç Biçer A. *Hastane İzolatı Staphylococcus aureus ve Koagülaz Negatif Staphylococcus Suşlarında Metisilin Direncinin Farklı Yöntemlerle Araştırılması* [Uzmanlık Tezi]. Adana: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 2009.
20. Gülmez D. Antimikrobiyal direnci belirlemede fenotipik yöntemler veya klasik yöntemler. *Ankem Derg.* 2014; 28(2): 221-8.
21. Özen NS, Dağlar D, Özhak Baysan B, et al. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının saptanmasında MRSA ID kromojenik besiyerinin değerlendirilmesi. *Ankem Derg.* 2011; 25(1): 31-4.
22. Van Hal SJ, Stark D, Lockwood B, Marriott D, Harkness J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) detection: comparison of two molecular methods (IDI-MRSA PCR assay and genotype MRSA direct PCR assay) with three selective MRSA agars (MRSA ID, MRSAselect and CHROMagar MRSA) for use with infection-control swabs. *J Clin Microbiol.* 2007; 45(8): 2486-90. [CrossRef]
23. Diederer BM, van Leest ML, van Duijn I, Willemse P, van Keulen PH, Kluytmans JA. Performance of MRSA ID, a new chromogenic medium for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2006; 44(2): 586-8. [CrossRef]
24. Hedin G, Fang H. Evaluation of two new chromogenic media, CHROMagar MRSA and S.aureus ID, for identifying *Staphylococcus aureus* and screening methicillin-resistant *S.aureus*. *J Clin Microbiol.* 2005; 43(8): 4242-4. [CrossRef]
25. 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 Journal of Applied Research.* 2014; 4(2): 7-9. [CrossRef]
26. Antimicrobial susceptibility testing. EUCAST disk diffusion method. Version 5.0. January 2015 [Internet]. Basel: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing [erişim 20 Temmuz 2017]. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/Manual_v_5.0_EUCAST_Disk_Test.pdf.
27. Susceptibility [Internet]. Birmingham: British Society of Antimicrobial Chemotherapy [erişim 20 Temmuz 2017]. <http://www.bsac.org.uk/stewardship-surveillance/susceptibility/>.
28. Recommendations 2014 [Internet]. Paris, Fransa: Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie [erişim 20 Temmuz 2017]. [http://www.sfm-microbiologie.org/User-Files/files/casfm/CASFM_EUCAST_V1_0_2014\(1\).pdf](http://www.sfm-microbiologie.org/User-Files/files/casfm/CASFM_EUCAST_V1_0_2014(1).pdf).