

KRONİK DİYALİZ HASTALARINDA BURUN STAPHYLOCOCCUS AUREUS TAŞIYICİLİĞİ VE METİSİLİN DİRENCİ

Yasemin BULUT¹, İlhami ÇELİK², Ahmet KALKAN²,
Süleyman FELEK², M. Ziya DOYMAZ¹

ÖZET

Kronik diyaliz hastalarında burun *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığı ve izole edilen suşlarda metisilin direncinin saptanması amacıyla, diyaliz programında bulunan gönüllü 115 kişi çalışma kapsamına alınmıştır. İzole edilen tüm suşlarda PCR yöntemi ile *mecA* geni araştırılmış ve buyyonda mikrodilüsyon yöntemi ile minimal inhibitör konsantrasyonları (MİK) belirlenmiştir. 115 olgunun 43'ünden (% 37) *S.aureus* izole edilmiş ve mikrodilüsyon yöntemi ile bu suşların 14'ü (% 33) dirençli bulunmuştur. 43 *S.aureus* suşunun 16'sında (% 37) *mecA* geni pozitif olarak saptanmış, *mecA* geni pozitif olan iki suş mikrodilüsyon yöntemi ile metisiline duyarlı bulunmuştur.

Sonuç olarak; kronik diyaliz hastalarında *S.aureus* taşıyıcılığı % 37, genotipik olarak metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) taşıyıcılığı ise % 14 olarak saptanmıştır. Diyaliz olgularında hastanede yatis süresi, diyalize girme sıklığı ve süresinin *S.aureus* taşıyıcılığını, metisilin direncini ve dirençli suşlarda MİK değerlerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkilemediği saptanmıştır. Metisiline dirençli stafilocoklar bir referans metodu olarak PCR yöntemi ile başarılı olarak saptanabilmekte ayrıca, bu yöntemle fenotipik olarak duyarlı bulunan suşların genotipik olarak metisiline dirençli olup olmadığı ortaya konulabilmektedir.

SUMMARY

Nasal carriage of Staphylococcus aureus in chronic renal dialysis patients and methicillin resistance.

Methicillin resistance of *Staphylococcus aureus* strains isolated from the nasal cultures of chronic renal dialysis patients were determined in 115 subjects undergoing dialysis treatment. Methicillin resistance gene (*mecA*) was searched by polymerase chain reaction (PCR). Minimum inhibitory concentrations (MIC) of methicillin were assessed by broth microdilution assay. In 43 samples out of 115, *S.aureus* strains were isolated and 14 of these exhibited methicillin resistance in microdilution assay. Sixteen out of 43 strains carried *mecA* gene as demonstrated by PCR assay. Two strains which were positive for *mecA* gene exhibited methicillin susceptibility in microdilution assay.

In conclusion, the rate of carrier state for *S.aureus* was 37 % among chronic renal dialysis patients and *mecA* gene positivity among these bacteria was 14 %. The longevity of hospitalisation, the frequency and duration of dialysis treatment did not influence the incidence of methicillin resistance and MIC values significantly. This study also shows that *mecA* positive strains of *S.aureus* could be identified successfully with PCR assay. It is in-

teresting to note that some *S.aureus* strains carry *mecA* gene but do not exhibit resistance phenotype.

GİRİŞ

Burun *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığının prevalansı; yaş, ırk, kronik böbrek yetmezliği, diabetes mellitus, kronik dermatit gibi kronik hastalıklar, parenteral kateterizasyon, intravenöz ilaç kullanımı, solunum yolu infeksiyonları, uzun süreli hospitalizasyon, cerrahi yaralar ve daha önce antibiyotik kullanımı (özellikle β-laktam antibiyotikler) gibi birçok faktör tarafından etkilenmektedir (5,28,29). Erişkinlerde burun *S.aureus* taşıyıcılığı oranı % 10-50 arasında değişmektedir. Türkiye'de değişik yıllarda hastanelerden izole edilen *S.aureus* suşlarında % 13-19 arasında değişen oranlarda metisilin direnci bildirilmiştir (1,11,16). MRSA'ların gerek tanımlanması, gerekse bunlara bağlı infeksiyonların tedavisindeki güçlükler ülkemiz için önemli bir sorun olmaya devam etmektedir (22). MRSA'lar başlangıçta sadece eğitim hastanelerinde nozokomiyal patojen olarak bilinirken, hastaneler arası hasta naklinin yaygın olduğu günümüzde hemen hemen tüm hastanelerde sorun oluşturmaktak, hatta hastane dışında gelişen infeksiyonlardan da sorumlu olabildiği bildirilmektedir (1,18).

S.aureus suşlarında metisilin direncinin araştırılmasında uygulanan disk difüzyon, buyyonda dilişyon ve agar tarama gibi değişik yöntemlerden hangisinin veya hangilerinin daha duyarlı ve özgül oldukları konusunda değişik yaynlarda farklı görüşler bildirilmiştir (25,32). Özellikle sınırdı dirençli suşlarda kültür koşulları sonuçları etkileyebilmekte, yanlış değerlendirmelere neden olabilmektedir. Bu sorunların üstesinden gelmek amacıyla metisilin direncinin saptanmasında alternatif bir yöntem olarak *mecA* geninin araştırılması önerilmektedir (20). Bu çalışmada, kronik diyaliz hastalarında burun *S.aureus* taşıyıcılığı ve izole edilen suşlarda metisilin direncinin saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Diyaliz programında bulunan gönüllü 115 kişi çalışma kapsamına alınmış, olgular ile yüz yüze görüşülerek bilgi formu doldurulmuştur. Burun sürüntüsü örnekleri, burun ön deliklerinden steril serum fizyolojik ıslatılmış pamuklu silgeç ile alınmıştır (9). Alınan örnekler % 5 koyun kanlı agara (Oxoid, Unipath Ltd, England) tek koloni ekimi yapılarak 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Gram pozitif kok görünümünde, katalaz ve koagülat pozitif koloniler *S.aureus* olarak değerlendirilmiş ve bu sonuç mannitol ve trehaloz deneyleri ile doğrulanmıştır. Kolonilerden Mueller-Hinton buyyona ekin yapılmış, kültürün 850 µl'sine 150 µl % 96'lık steril gliserol ilave edilerek vortekslenmiş ve likid nitrojende hızla dondurularak PCR için -70°C'de derin dondurucuda saklanmıştır (25). Metisilin direnci NCCLS M7-T2 kılavuzuna göre buyyonda mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır. Kalite kontrol suyu olarak *S.aureus* ATCC 29213 kullanılmıştır. Oksasılın (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, ABD) MİK'i 2 µg/ml ve altında olan suşlar duyarlı, 4 µg/ml ve üzerinde olan suşlar dirençli olarak değerlendirilmiştir.

Izole edilen tüm suşlarda PCR yöntemi ile *mecA* geni araştırılmıştır (21). Bu amaçla koyun kanlı agara pasajı yapılarak üretilen bakterilerden ticari kit (Wizard Genomic DNA Purification kiti, Promega Co, Madison, WI, ABD) yardımıyla DNA izolasyonu yapılmıştır. Kitdeki protokole göre kullanılması gerken lizozim (Sigma) ve lizostafinin (Sigma) miktar ve yoğunluklarında modifikasyon yapılmıştır. Agarda üretilen bakterilerden bir öze dolusu alınıp, steril fosfat buffer solusyonu (PBS) ile 13,000 rpm'de santrifüj edilmiş, sant-

rifüjden sonra, üst sıvı dökülüp hücrelerin üzerine 5 mg/ml lizozimden 100 μ l, 75 μ g/ml lisostafinden 100 μ l ve 50 mM EDTA (etilendiamin tetra asetik asit)'dan ise 480 μ l eklenip, 37°C'de 1 saat bekletilmiştir (32). Bundan sonraki aşamalar protokole göre gerçekleştirilmiştir. İzopraponol ile DNA çöktürülmesi ve % 70'lik alkolle yıkama işlemleri yapıldıktan sonra pelet DNA oda ısısında kurutularak, 50 μ l steril distile su içinde resüspansedilip sonra primerleri kullanılmıştır. *mecA* geninin çoğaltılmışında *mecA-1* (5'-AAA ATC GAT GGT AAA GGT TGG C-3') ve *mecA-2* (5'-AGT TCT GCA GTA CCG GAT TTG C) primerleri kullanılmıştır (20). Elde edilen bakteriyel DNA'nın 10 μ l'si ve her bir primerden 20 pmol kullanılarak son hacmi 50 μ l olan PCR karışımı hazırlanmış ve DNA'nın çoğaltılması 94°C'de 30 sn, 55°C'de 30 sn, 72°C'de 1 dak'lk 40 döngüde gerçekleştirilmiştir.

Çoğaltılan PCR ürünleri 1 μ g/ml etidyum bromid içeren % 2.5'lik agaroz jelde elektroforez edilmiş ve 533 baz çifti uzunluğundaki *mecA* geni görüntülenmiştir (Şekil).



Şekil. 1. 1. hat 100 bp'lik DNA merdiven markeri; 5, 6 ve 10. hatlar negatif örnekleri, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 11 ve 12. hatlar ise 533 bp'lik pozitif örnekleri göstermektedir.

S.aureus taşıyıcılığı, *mecA* geni pozitifliğinin istatistiksel değerlendirilmesinde ki-kare testi, MIK değerlerinin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi uygulanmıştır.

BULGULAR

Çalışma kapsamına alınan 115 olgunun 58'i erkek, 57'si kadın olup yaşıları 9-78 (47.6 \pm 15.7) arasında değişiyordu. Olguların 111'ine hemodializ, 4'üne periton dializi uygulanmaktadır. 115 olgunun 43'ünden (% 37) *S.aureus* izole edilmiş ve mikrodilüsyon yöntemi ile bu susların 14'ü (% 33) dirençli, 29'u (% 67) duyarlı olarak saptanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. 43 *S.aureus* susunun MIK değerlerine göre dağılımı.

MIK (μ g/ml)	0.25	0.5	1	2	4*	8-32	64	128	256
Suş sayısı	15	5	6	3	4	8	2	-	-

* Direnç sınırı.

43 *S.aureus* suşunun 16'sında (% 37) *mecA* geni pozitif, 27'sinde (% 67) negatif olarak saptanmış, *mecA* geni pozitif olan iki suş mikrodilüsyon yöntemi ile metisiline duyarlı (MİK 0.5 µg/ml) bulunmuştur. Tüm olgularda MRSA taşıyıcılığı PCR ile % 14 oranında bulunmuştur.

Olgular, çalışmanın yapıldığı ana kadar herhangi bir nedenle hastanede yatırılarak izlendikleri toplam süreler dikkate alınarak gruplandırılmıştır ve *S.aureus*, MRSA oranları ve MİK değerleri yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 2).

Tablo 2. Olguların hastanede yatma sürelerine göre dağılımı.

Hastanede yatma süresi	Tüm olgular		<i>S.aureus</i>		FD suşlar			GD suşlar	
	n	%	n	%	n	%	MİK aralığı (µg/ml)	n	%
0-1 hafta	21	18	5	12	1	7	32	2	12
2-3 hafta	47	41	20	47	8	57	4-64	8	50
4-5 hafta	22	19	9	21	1	7	16	2	12
6 hafta ve üzeri	25	22	9	21	4	29	4-8	4	25
Toplam	115	100	43	100	14	100		16	100

FD: Fenotipik dirençli, GD: Genotipik dirençli

Olgular diyaliz programına alındıktan sonra çalışmanın yapıldığı ana kadar geçen süreye göre gruplandırıldığından *S.aureus*, MRSA oranları ve MİK değerleri yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 3).

Tablo 3. Diyaliz programına alındıktan sonra geçen süreye göre olguların dağılımı.

Diyaliz uygulama süresi	Tüm olgular		<i>S.aureus</i>		FD suşlar			GD suşlar	
	n	%	n	%	n	%	MİK aralığı (µg/ml)	n	%
0-24	59	51	22	51	10	71	4-64	10	62
25-48	36	31	13	30	3	21	4	4	25
49-72	13	11	6	14	1	7	4	2	12
73 ay ve üzeri	7	6	2	5	-	-	-	-	-
Toplam	115	100	43	100	14	100		16	100

FD: Fenotipik dirençli, GD: Genotipik dirençli

Olgular, çalışmanın yapıldığı anda hangi sıklıkta diyalize girdikleri dikkate alınarak gruplandırıldığından da *S.aureus*, MRSA oranları ve MİK değerleri yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 4).

Tablo 4. Olguların diyalize girme sıklıklarına göre dağılımı.

Diyaliz uygulama sıklığı (gün/hafta)	Tüm olgular		<i>S.aureus</i>		FD suşlar			GD suşlar	
	n	%	n	%	n	%	MİK aralığı (µg/ml)	n	%
1	10	9	2	5	1	7	16	1	6
2	48	42	24	56	8	57	4-64	9	56
3	52	45	15	35	5	36	4-32	6	37
3'ten fazla	5	4	2	5	-	-	-	-	-
Toplam	115	100	43	100	14	100		16	100

FD: Fenotipik dirençli, GD: Genotipik dirençli

TARTIŞMA

S.aureus suşlarında metisilin direncinin araştırılmasında uygulanan disk difüzyon, buyyonda mikrodilüsyon ve agar tarama gibi değişik yöntemlerden hangisinin veya hangilerinin daha duyarlı ve özgül oldukları konusunda değişik yayınlarda farklı görüşler bildirilmiştir (23,25,31). Metisilin duyarlılığı için disk difüzyon, dilüsyon ve agar tarama yöntemlerinin karşılaşıldığı bir çalışmada; bu üç yöntemin birbirine bariz üstünlüklerinin olmadığı bildirilmiştir. Dünyadaki laboratuvarların % 75'i duyarlılık yöntemi olarak disk difüzyon yöntemini tercih etmektedir (12,25). Buyyonda mikrodilüsyon yöntemi, duyarlı ve dirençli ayırimına olanak sağlamaşının yanı sıra MİK'in belirlenmesi ile sağlama, klinik yanıtın nasıl bir seyir göstereceğinin anlaşılması da yardımcı olabilir (27). Bu çalışmada, klinik izolatlar üzerinde çalışmamıştır. Ancak, diyaliz olgularında burunda koloniye MRSA suşlarının saptanması yanı sıra, bu suşlarda epidemiyolojik faktörlerin MİK değerleri üzerine etkilerini saptamak amaçlanmıştır.

Metisilin direncinin saptanmasında PCR yöntemi ile *mecA* geninin araştırılması en duyarlı yöntem olarak kabul edilir ve *mecA* geni pozitif bulunan suşlar % 100 dirençli, *mecA* geni negatif bulunan suşlar ise % 100 dirençli kabul edilirler. Ancak, *mecA* geni pozitif her *S.aureus* suşu fenotipik olarak dirençli olmayıabilecegi gibi, *mecA* geni negatif her suş da duyarlı olmayıabilir (7,9,19). Bakteride metisilin direncinin ortaya çıkabilmesi için *mecA* geninin ifade edilmesi gereklidir. Bu nedenle *mecA* geni taşıdığı halde metisiline değişik düzeylerde dirençli, hatta duyarlı suşlar olabilmektedir (3). Skov ve arkadaşları (26) fenotipik testlerin özellikle borderline dirençli suşlarda yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlara yol açabileceğini ve *mecA* geni çalışmasının güvenilir olduğunu bildirmiştir. Kazuhisa ve arkadaşları (14) tarafından yapılan bir çalışmada *mecA* geni pozitif olan 111 *S.aureus* suşunun içinde (% 2.7) oksasiline duyarlılık saptanmışlar ve bunu suşların PBP2' üreteme yeteneklerindeki azlığı bağlamışlardır. Çalışmamızda da, izole edilen 43 *S.aureus* suşunun 16'sında (% 37). *mecA* pozitif olarak saptanmıştır. *mecA* geni pozitif olan iki suş buyyonda mikrodilüsyon yöntemi ile metisilene duyarlı bulunmuştur. Bu suşların her ikisi de MİK değerleri 0.5 µg/ml olarak saptanmış, ancak, bunun nedenini açıklayacak ileri çalışmalar yapılmamıştır.

Ülkemizde ve yurt dışında diyaliz hastalarında yapılan çalışmalarda % 29.8 - % 55 arasında değişen oranlarda burun *S.aureus* taşıyıcılığı bildirilmiştir (2,4,6,8,10,13,24). Diyaliz hastalarında burun MRSA taşıyıcılığı ile ilgili olarak yapılmış fazla sayıda çalışmaya ulaşmadık. Bu konuda ulaşabildiğimiz tek bir çalışmada, Lye ve arkadaşları (17) periton diyalizi uygulanan hastalarda MRSA taşıyıcılık oranını % 16.8 olarak bildirmiştir. Buzim çalışmamızda burun *S.aureus* taşıyıcılığı % 37, genotipik MRSA taşıyıcılığı ise % 14 olarak bulunmuştur.

Burun *S.aureus* taşıyıcılığının prevalansı kronik böbrek yetmezliği, uzun süreli hospitalizasyon ve daha önce antibiyotik kullanımı (özellikle β-laktam antibiyotikler) gibi bir çok faktör tarafından etkilenmektedir (5,28,29,30). Çalışmamızda hastaların tümünde antibiyotik kullanma öyküsü mevcuttu. Kronik böbrek yetmezliği olan hastalardan oluşturduğumuz çalışma grubunda gerek burun *S.aureus* taşıyıcılığı, gerekse MRSA taşıyıcılığı literatürle uyumludur. *S.aureus* taşıyıcılığı, metisilin direnci ve MİK değerleri üzerine hospitalizasyonun etkisini araştırmak amacıyla, olgular hastanede yatış süresi, diyalize girme sıklığı ve süresine göre gruplandırılmış ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Ancak, benzer çalışmalarla hastanede yatma ve diyaliz uygulama sürelerinin burun *S.aureus* taşıyıcılığını artırdığı bildirilmiştir (10). Çalışmamızda, hastanede yatma ve diyaliz uygulama süresinin taşıyıcılık ve direnci artırmayışi, olgu-

larımızın tümünün antibiyotik kullanma öykülerinin olması ve diyaliz ünitesindeki *S.aureus* prevalansının yüksek olmasından kaynaklanabilir.

Sonuç olarak; bu çalışmada *S.aureus* taşıyıcılığı % 37, genotipik olarak MRSA taşıyıcılığını ise % 14 olarak saptanmış, hastanede yatiş süresi, diyalize girme sıklığı ve süresinin diyaliz olgularında *S.aureus* taşıyıcılığını, metisilin direncini ve dirençli suşlarda MİK değerlerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkilemediği görülmüştür. Metisiline dirençli stafilocoklar bir referans metodu olarak PCR yöntemi ile başarılı olarak saptanabilir. Ayrıca, bu yöntemle fenotipik olarak duyarlı bulunan suşların genotipik olarak metisiline dirençli olup olmadığı ortaya konabilir. Zira, uygun koşullarda direnç fenotipe yansımabilir ve sağaltımında başarısızlığa yol açabilir.

KAYNAKLAR

- 1- Akalın HE, Çelik E, Baykal M, Kardeş T: Metisiline dirençli stafilocokların bazı antibiyotiklere karşı invitro duyarlılıklarını, *ANKEM Derg* 1:22 (1987).
- 2- Akgül A, Dündar V, Metin T, Selçuk S: Haydarpaşa Numune Hastanesi'nde burun taşıyıcılarından izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının oksasiline direncinin buyyon mikrodilüsyon yöntemiyle incelenmesi, *ANKEM Derg* 5:159 (1991).
- 3- Belkum AV, Bax R, Prevost G: Comparison of four genotyping assays for epidemiological study of methicillin resistant *S.aureus*, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 13:420 (1994).
- 4- Boalert JR: *Staphylococcus aureus* infection in hemodialysis patients, *J Chemother* 6:19 (1994).
- 5- Brumfit W, Hamilton-Miller J: Methicillin resistant *S.aureus*, *N Engl J Med* 320:1188 (1989).
- 6- Chow JW, Yu VL: *Staphylococcus aureus* nasal carriage in hemodialysis patients. Its role in infection and approaches to prophylaxis, *Arch Intern Med* 149:1258 (1989).
- 7- Cloney L, Marlowe C, Wong A, Chow R, Bryan R: Rapid detection of *mecA* in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* using cycling probe technology, *Mol Cell Probes* 13:191 (1999).
- 8- Çetinkaya Y, Ünal S: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* infeksiyonları: epidemiyoloji ve kontrol, *Flora* 1 (3 ek):3 (1996).
- 9- Dündar V, Akata F, Uzun C, Otkun M, Karapınar F, Tuğrul M: Trakya Üniversitesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesi'nde burun taşıyıcılarından izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında oksasılın direnci, *Klinik Derg* 7:159 (1994).
- 10- Erdem I, Göktaş P, Bayramer HF, Özel Y, Güven B: Hemodiyaliz hastalarında *Staphylococcus aureus* nazal taşıyıcılığı ve *S.aureus*'un neden olduğu santral venöz kateter infeksiyonları ile ilişkisi, *Flora* 4:120 (1999).
- 11- Ertuğrul N, Başkaya I, Tural D, Altay G: Stafilocok suşlarının penisilin, oksasilin, vankomisin ve ampiçilin-sulbaktama duyarlılıklarını, *ANKEM Derg* 2:108 (1988).
- 12- Jorgensen JH: Mechanisms of methicillin resistance in *S.aureus* and methods for laboratory detection, *Infect Control Hosp Epidemiol* 12:14 (1991).
- 13- Karahan M, Karabiber N, Kılıç H, Boran M: Hemodiyaliz hastalarında *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığı ve tedavisi, *ANKEM Derg* 5:196 (1991).
- 14- Kazuhisa, M, Minamide W, Wada K, Nakamura E, Teraoka H, Watanabe S: Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction, *J Clin Microbiol* 29:2240 (1991).
- 15- Kluytmans J, Van Belkum, Verbrugh H: Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, underlying mechanisms and associated risk, *Clin Microbiol Rev* 10:505 (1997).
- 16- Köksal İ, Koç H: Beta-laktamaz meydana getiren stafilocok suşlarının belirlenmesi ve antibiyotik direnci, *ANKEM Derg* 4:234 (1990).

- 17- Lye WC, Leong SO, Lee EJC: Methicillin resistant strains of *Staphylococcus aureus* nasal carriage and infections in CAPD, *Kidney International* 43:1357 (1993).
- 18- Metin T, Dündar V, Akgül A, Selçuk S: Haydarpaşa Numune Hastanesi'nde burun taşıyıcılarından elde edilen oksasiline dirençli *S.aureus* suşlarının epidemiyolojisinin antibiyotik tiplendirme yöntemiyle tiplendirilmesi, *ANKEM Derg* 5:160 (1991).
- 19- Montagnac R, Eloy C, Schillinger F, Croix JC, Milcent T: Repeated studies of the prevalence of the *Staphylococcus aureus* in the nasal cavity in hemodialysed patients, *Presse Med* 24:1075 (1995).
- 20- Murakami K, Minamide W, Wada K, Nakamura E, Teraoka H, Watannabe S: Identification of methicillin resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction, *J Clin Microbiol* 29:2240 (1991).
- 21- National Committee for Laboratory Standards: *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically*, Approved Standard M7-A2, NCCLS, Villanova, Pa (1990).
- 22- Özsan M, Tan G, Özenci H: Çeşitli klinik örneklerden elde edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antibakteriyellere duyarlılıklarını, *Mikrobiyol Bült* 23:246 (1989).
- 23- Petersson AC, Kamme C, Miørner H: Disk with high oxacillin content discriminates between methicillin-resistant and borderline methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains in disk diffusion assays using a low salt concentration, *J Clin Microbiol* 37:2047 (1999).
- 24- Roubicek C, Brunet P, Mallet MN, Dussol B, Gonzales A, Andrieu D, Merzouk T, Jaber K, Berland Y: Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: prevalence in a hemodialysis center and effect on bacteremia, *Nephrologie* 16:229 (1995).
- 25- Shambrook J, Fritsch EF, Moniatis T: *Molecular Cloning*, Second edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (1989).
- 26- Skov RL, Pallesen LV, Poulsen RL, Espersen F: Evaluation of a new 3-h hybridization method for detecting the *mecA* gene in *Staphylococcus aureus* and phenotypic susceptibility testing methods, *J Antimicrob Chemother* 43:467 (1999).
- 27- Sümerkan B, Gökahmetoğlu S: MIC, MBC testleri, rutindeki önemi ve uygulamaları, *Flora* 3:91 (1998).
- 28- Thornsberry C: The development of antimicrobial resistance in staphylococci, *J Antimicrob Chemother* 21:9 (1988).
- 29- Thornsberry C: Methicillin resistant (heteroresistant) staphylococci, *ANNLDO* 1:43 (1984).
- 30- Townsend DE, Ashdown N, Bolton S et al: The international spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *J Hosp Infect* 9:60 (1987).
- 31- Willke A: Stafilocoklarda metisilin direnç mekanizmaları ve belirlenmesi, *ANKEM Derg* 6:288 (1992).
- 32- Zambardi G, Elisabeth M, Bland S, Bes M, Freney J, Fleurette J: Laboratory diagnosis of oxacillin resistance in *S.aureus* by a multiplex-polymerase chain reaction assay, *Diagn Microbiol Infect Dis* 19:25 (1994).