

Diyaliz Hastalarının Nazal Sürüntü Örneklerinde Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığının Kültür ve Moleküler Hızlı Test Yöntemi ile (BD GeneOhm StaphSr Assay) Tespiti

Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Detection by BD GeneOhm StaphSr assay and Conventional Culture Methods Among Nasal Carriers in a Hemodialysis Unit

Dr. Şükran KÖSE,^a
Dr. Gülfem ECE,^a
Dr. Ayhan GÖZAYDIN^a

^aEnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İzmir

Geliş Tarihi/Received: 03.11.2010
Kabul Tarihi/Accepted: 23.05.2011

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Gülfem ECE
İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İzmir, TÜRKİYE/ TURKEY
gulfem.ece@gmail.com

ÖZET Amaç: İlk çoklu metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) izolatlarının saptandığı 1970'li yılların sonlarından itibaren, bu suşlarda belirgin bir artış gözlenmiştir. Bu suşların tespitini sağlayabilen hızlı bir test; mortalite, hastanede kalış süresi ve maliyette azalma sağlayacaktır. Hemodiyaliz hastalarında en sık görülen enfeksiyonlar; vasküler giriş yeri enfeksiyonlarıdır ve çoğunlukla etken *S. aureus*'tur. Bu çalışmada, diyaliz hastalarının nazal sürüntü örneklerindeki MRSA taşıyıcılığının saptanmasında kültür ile hızlı moleküler bir test yöntemi olan Becton-Dickinson GeneOhm StaphSR testinin karşılaştırılması amaçlandı. **Gereç ve Yöntemler:** İzmir ilinde özel bir hemodiyaliz merkezindeki hastalardan steril eküvyonlar ile iki adet burun sürüntüsü alındı ve taşıma besiyerine (BBL Culture Swab, Becton-Dickinson, ABD) konuldu. Örneklerden biri kanlı agar plağına pasajlandı, 48 saat süre ile inkübe edildi ve identifikasyonu konvansiyonel yöntemler ile yapıldı. Diğeri ise mutipleks gerçek-zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) testi olan Becton-Dickinson GeneOhm StaphSR testi (Becton-Dickinson, ABD) ile çalışıldı. **Bulgular:** Kültür yöntemi ile toplam 49 örneğin 12 (%24.5)'inde *S. aureus* üredi. Kültür ve moleküler test sonucu negatif olan örnek sayısı 35 (%71.4); hem kültürde hem de moleküler test sonucunda MRSA saptanan örnek sayısı 2 (%4.08) bulundu. Kültürde, MRSA üremesi olan ve moleküler testte MRSA saptanamayan örnek sayısı 10 (%20.4); kültürde üremeyen; moleküler testte MRSA tespit edilen örnek sayısı 2 (%4.08) olarak bulundu. **Sonuç:** MRSA taşıyıcılarının hızlı tespiti enfeksiyonun yayılma potansiyelini azaltma ve tedavi başarısı açısından önemlidir. Kültürde *S. aureus*'un üremesi için en az 24-48 saat gerektiğinden, doğrudan klinik örnekten çalışılan ve kısa sürede sonucun alındığı moleküler testlere gereksinim artmıştır. Çalışmamızda duyarlılığın düşük olması yalancı negatifliğin fazla olmasından kaynaklanabilir.

Anahtar Kelimeler: Diyaliz; kültür; metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT Objective: After the first occurrence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates (MRSA) in 1970's, a dramatic increase has occurred. The rapid detection would cause a decrease in hospital stay, infection rate and mortality. Vascular access infections are frequent in hemodialysis patients and mostly isolated bacteria is *S. aureus*. The aim of our study is to evaluate the culture and Becton-Dickinson GeneOhm StaphSR assay results in nasal specimens of a private hemodialysis center patients. **Materials and Methods:** Samples were taken from the patients of the hemodialysis center. Two nasal swabs (BBL Culture Swab, Becton-Dickinson, USA) were taken and one of them was streaked on blood agar, incubated for forty-eight hours and identified by conventional methods. The other one was studied by Becton-Dickinson GeneOhm StaphSR assay (Becton-Dickinson, USA) method. **Results:** Out of forty-nine samples; the conventional culture yielded a total of twelve *S. aureus* (24.5%) isolates. Thirty five (71.4%) of the samples were negative by both methods. MRSA was detected from two samples (4.08%) by both methods. Ten (20.4%) samples had MRSA positive by culture; but not by molecular method. Two (4.08%) of them had MRSA positive by molecular method but not in culture. **Conclusion:** Rapid detection of MRSA carriers is important for decreasing the infection spread and outcome of the treatment. Isolation of *S. aureus* by culture takes 24-48 hours and this brings the need of molecular assays which are giving results in a short amount of time. In our study the low sensitivity could be due to high number of false negativity.

Key Words: Dialysis; culture; methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Stafilokoklar, gram-pozitif kok morfolojisinde bakteriler olup Micrococcaceae ailesinde yer almaktadır. *Staphylococcus aureus*, toplum veya hastane kökenli ciddi enfeksiyon sebebi olup, hastane kökenli enfeksiyonlar açısından önem kazanmaktadır.^{1,2} 1960 yılında penisilinaza dirençli metisilin kullanılmaya başlanmasının ardından; 1970 ve 1980'li yıllarda mefisiline dirençli *S. aureus* (MRSA)'larda çoklu antibiyotik direnci meydana gelmiştir. Direnç probleminin artmasıyla birlikte MRSA, hastane kökenli salgınlara yol açan önemli bir sağlık sorunu olmuştur. Bu suşların izole edilmesi ile tedavi seçenekleri kısıtlı hale gelmekte, hastanede kalış süresi uzamakta, morbidite ve mortalitede artış görülmektedir.^{3,4}

S. aureus için doğal rezervuar insanlardır ve başlıca yerleşim yeri nazal vestibüldür. İnsanların %10-20'sinde persistan olmak üzere, sağlıklı bireylerin %10-50'sinde kolonize olmaktadır. MRSA ile kolonize olan hastalarda enfeksiyon gelişme riski, kolonize olmayanlara göre dört kat daha fazladır. MRSA; büyük ve hareketli bir genetik eleman olan "staphylococcal cassette chromosome mec (SCC mec)"in metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) suşlarına aktarılması ile meydana gelmektedir. *S. aureus*'ta metisilin direnci, mecA tarafından kodlanır ve beta-laktamlara azalmış afiniteli PBP2a sentezinden sorumludur. mecA geni mobil genetik elemanın bir parçasıdır. Hastaneye yeni yatmış enfekte veya kolonize hastalar MRSA bulaşında temel neden olduğundan, kolonizasyon oranı hastanede yatış süresi ile artmaktadır. Bakterinin hastadan hastaya bulaşması, en sık bakteri ile geçici olarak kolonize hastane personelinin elleri aracılığıyla olmaktadır. Hastaların ve sağlık personelinin nazal MRSA taşıyıcılığı açısından taranması, yüksek mortalitesi ve maliyeti olan nozokomiyal MRSA enfeksiyonlarının önlenmesinde gereklidir.⁵⁻⁹

S. aureus, insanlarda enfeksiyona yol açan önemli bir patojendir. Nazal taşıyıcılık enfeksiyonları açısından önemlidir. Normal popülasyonun yaklaşık %30'u kalıcı *S. aureus* taşıyıcısıdır. Taşıyıcılık oranları, invaziv girişime maruz kalan kronik hemodiyaliz hastalarında ve damar içi ilaç kullananlarda artış göstermektedir.¹⁰

Hemodiyaliz hastalarında sık görülen enfeksiyonlar, hemodiyaliz uygulaması için takılan kate-

terlerin neden olduğu vasküler giriş yeri enfeksiyonlarıdır ve bunların %70-92'sinde etken *S. aureus*'tur. Mikroorganizmanın en önemli kolonizasyon bölgesi ön burun mukozasıdır. Bu nedenle nazal kültür ile taşıyıcılığın ve izole edilen suşlarda metisilin direncinin saptanmasının önemli olduğu bildirilmektedir.^{11,12}

S. aureus ve MRSA'nın hızlı tespitini sağlayan bir test; mortalitede, hastanede kalış süresinde ve maliyette belirgin bir azalma sağlayacaktır. Kullanılacak testin; yüksek duyarlılığı ve özgüllüğü olan, kullanımı kolay ve geniş platformda kullanılabilir olması gereklidir.¹³

Becton-Dickinson GeneOhm StaphSR; bir multipleks gerçek-zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yöntemidir. Bu yöntem, MSSA ve MRSA ayırımı yapan sonuçlar vermektedir. Bu çalışmada, MRSA enfeksiyonlarının sorun teşkil ettiği diyaliz hastalarının nazal sürüntü örneklerindeki MRSA taşıyıcılığının kültür ve hızlı bir moleküler test yöntemi olan Becton-Dickinson GeneOhm StaphSR testi ile saptanarak karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

HASTALAR

Çalışmaya, İzmir ilinde özel bir merkezde hemodiyaliz tedavisi alanlar dâhil edildi. Hastalardan işlemler öncesi aydınlatılmış onam alındı. Kronik böbrek yetmezliği dışında ek kronik hastalık öyküsü, işlem sırasında üst solunum yolları enfeksiyonu (ÜSYE) şikâyetlerinin (ateş yüksekliği, burun akıntısı veya tıkanıklığı, boğaz ağrısı, baş ağrısı, miyalji) varlığı, işlem sırasında ve/veya son bir hafta içerisinde antibiyotik kullanım öyküsü olup olmadığı sorgulandı. Bilinci kapalı, burun deliklerinde lokal enfeksiyon bulguları olan hastalar çalışmaya alınmadı. Hastalardan steril swablar (BBL Culture Swab, Becton-Dickinson, ABD) ile iki adet burun sürüntü örneği alındı. Örnekler etiketlendi (ad-soyad, tarih) ve örneklerden biri en geç iki saat içinde kanlı agar plaklarına (Becton-Dickinson, ABD) tek koloni düşecek şekilde pasajlandı. Diğer örnek ise en geç beş saat içerisinde moleküler test için işleme tabi tutuldu.

KÜLTÜR YÖNTEMİ

Yüzde 5 koyun kanı içeren kanlı agar plaklarına tek koloni düşecek şekilde pasajlanan nazal sürüntü ör-

nekleri 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Üreyen bakterilerin identifikasyonu standart bakteriyolojik yöntemlerle (koloni morfolojisi, Gram boyanma özelliği, mikroskopik morfoloji, katalaz ve koagülaz testi) yapıldı. Metisilin duyarlılık testi "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" önerilerine göre yapıldı.¹⁴ *S. aureus* olarak tanımlanan kolonilerden 0.5 McFarland bulanıklık standardında bakteri süspansiyonu hazırlandı. Bu süspansiyondan Mueller-Hinton (Becton-Dickinson, ABD) agara ekim yapıldıktan sonra kültür plağına sefoksitin (30 mg) (Becton-Dickinson, ABD) diski yerleştirildi. Sefoksitin inhibisyon zon çapları, aerob ortamda 37°C'de 24 saatlik inkübasyon sonrası ölçüldü ve 21 mm ve altında inhibisyon zonu oluşturan suşlar metisiline dirençli kabul edildi.

BECTON-DICKINSON GeneOhm StaphSR TESTİ

Alınan nazal sürüntü eküvyonu kit içerisinde çıkan mavi kapaklı tüpe konularak yüksek hızda 1 dakika vortekslendi. Tüpteki tüm süspansiyon sıvısı sarı kapaklı lizis tüpüne aktarılarak 5 dakika yüksek hızda santrifüj edildi. Lizis tüpüne 50 µL örnek tamponundan eklendi ve 5 dakika yüksek hızda vortekslendi. Daha sonra kısa süreli yüksek hızda tekrar santrifüj edildi. 95 ± 2°C'ye ayarlanmış kuru ısı bloğunda 2 dakika bekletildi. Isıtılan lizis tüpü ardından soğutma bloğuna alındı. Elde edilen ana karışım tüpüne 225 µL seyreltici eklenerek 5-10 saniye yüksek hızda çalkalandı. Bu seyreltilmiş ana karışımdan 25 µL SmartCyler tüplerine kondu. Her lizise uğratılmış örnekten 3.0 µL'lik miktar önceden seyreltilmiş ana karışım ile doldurulmuş farklı bir SmartCyler tüpüne kondu. Daha sonra pozitif ve negatif kontrol tüpleri hazırlandı. Tüm

reaksiyon tüpleri 5-10 saniye santrifüj edildi ve soğutma bloğu üzerinde 2-8°C'de tutuldu. Hazırlanan her bir reaksiyon tüpü SmartCyler® cihazının I-CORE® modülüne yerleştirilerek I-CORE®'nin kapağı kapatılarak çevrim başlatıldı. Tablo 1'deki kriterlere göre sonuçlar yorumlandı.

BULGULAR

Çalışmaya 26 (%53)'sı erkek, 23 (%47)'ü kadın, toplam 49 hemodiyaliz hastası alındı. Hastaların yaş ortalamaları 54.5 (26-83) yıl idi. Hastaların 9 (%18.4)'unda diyabet, 5 (%10.2)'inde hipertansiyon, 6 (%12.2)'sında anti-HCV pozitifliği, 4 (%8.2)'ünde HBsAg pozitifliği vardı (Tablo 2). Sekiz hasta son bir hafta içerisinde ve/veya işlem sırasında çeşitli nedenlerle gram-pozitif bakterilere de etkinliği olan çeşitli antibiyotikler kullanıyordu (Birinci kuşak sefalosporin, ampicilin/sulbaktam, amoksisilin/klavulanik asit, levofloksasin, siprofloksasin).

Hastalardan alınan nazal sürüntü örneklerinin 12 (%24.5)'sinde *S. aureus* üredi. Diğer örneklerde ise normal flora bakterileri üredi. Konvansiyonel kültürde normal flora bakterilerinin ürediği ve moleküler test sonucunun negatif bulunduğu hasta sayısı 35 (%71.4) olarak bulunurken; kültürde MRSA'nın ürediği ve moleküler test sonucunda MRSA saptanan hasta sayısı 2 (%4.08) olarak bulundu. Konvansiyonel kültür sonucunda MRSA üremesi olan ve moleküler testte MRSA saptanmayan örnek sayısı 10 (%20.4) olarak bulundu. Kültürde normal flora bakterilerinin ürediği ve moleküler testte MRSA tespit edilen örnek sayısı ise 2 (%4.08) olarak belirlendi (Tablo 3).

TABLO 1: BD GeneOhm StaphSR test sistemi sonuçlarının yorumlanması.

Bildirilen test sonucu	Bildirilen IC sonucu	Sonucun yorumlanması
NEG (NEG)	PASS (GEÇTİ)	<i>S. aureus</i> DNA'sı saptanmadı
POS (POS)	NA (Uygulanamaz)	MRSA DNA'sı saptandı
Reaktif (Reaktif)	NA (Uygulanamaz)	<i>S. aureus</i> DNA'sı saptandı, MRSA DNA'sı saptanmadı
Unresolved (Çözümlememiş)	FAILURE (BAŞARISIZ)	Çözümlememiş-engelleyici örnek veya ayrıca başarısızlığı
ND (Belirlenmedi)	ND (Belirlenmedi)	I-CORE modülü başarısızlığı nedeni ile saptanmadı

IC: Dâhili kontrol; NA: Uygulanamaz; ND: Belirlenmedi.

TABLO 2: Hastaların genel özellikleri.

Cinsiyet	Yaş ortalaması	Eşlik eden hastalıklar	%	Hepatit belirteç durumu	%
%53 E %47 K	54.5 yıl (26-83)	Diyabet	18.4	Anti-HCV pozitif	12.2
		Hipertansiyon	10.2		
		Diğer	10.2	HBsAg pozitif	8.2

TARTIŞMA

Hemodiyaliz hastalarının, mortalite nedenleri arasında enfeksiyonlar ikinci sıklıkta yer almaktadır. Bu hastalarda nazal taşıyıcılık enfeksiyonlar açısından önemlidir. Nazal *S. aureus* taşıyıcısı olan hemodiyaliz ve periton diyalizi hastalarında kateter giriş yeri enfeksiyonu, peritonit ve bakteriyemi görülme sıklığı artmış olup, bu enfeksiyonlardan soyutlanan suşların nazal suşlarla aynı oldukları bildirilmiştir.¹⁵ Nazal taşıyıcılık çoğunlukla geçicidir; ancak erişkin bireylerin %20-40'ında uzun süreli kolonizasyon da görülebilmektedir.¹⁶

Standart yöntemler ile MRSA tanımlaması 48-72 saati bulmaktadır. Bu nedenle son yıllarda yeni ve hızlı tanı yöntemleri geliştirilmektedir. Bu yöntemler fenotipik ve moleküler yöntemler olarak iki ana başlıkta toplanmaktadır. Fenotipik yöntemler; genellikle kromojenik besiyerleridir. Moleküler yöntemler ise PCR tabanlı testlerdir.¹⁷

Daeschlein ve ark. yaptıkları çalışmada, sağlık çalışanlarından alınan 251 adet nazal sürüntü örneğinde konvansiyonel kültür yöntemini; ticari bir multipleks PCR yöntemi ile karşılaştırmışlardır. Sekiz (%3.2) örnekte, her iki yöntem tarafından MRSA saptanmıştır. Bir örnekte sadece kültür pozitif iken, üç örnekte sadece PCR ile MRSA gösterilmiştir. 215 (%90) örnekte ise her iki yöntem ile de MRSA saptanmamıştır. Kültür ve PCR yöntemi kar-

şılaştırıldığında duyarlılık %75 olarak bildirilmiştir. Pozitif prediktif değer %31.4'tür; ancak negatif prediktif değer %99.5'tir.¹⁸ Bu çalışmanın sonuçlarına göre düşük MRSA prevalansı olan topluluklarda nazal sürüntü örneklerinde MRSA negatif bireyler kolaylıkla saptanabilir; ancak MRSA pozitif saptanan örneklerin konvansiyonel kültür yöntemleri ile sonuçlarının doğrulanması gerekebilir.

Bischof ve ark. nazal örneklerde MRSA saptanmasına yönelik olarak kromojenik besiyerini, BD GeneOhm MRSA PCR yöntemi ile karşılaştırmıştır. Bu amaçla cerrahi yoğun bakım hastalarından 370 nazal sürüntü örneği alınmıştır. Moleküler yöntem ile 28 örnekte MRSA saptanmıştır. Yirmi sekiz örneğin 24'ü kültür pozitifdir. Dört örnekte moleküler yöntem pozitif iken, kültür ile MRSA saptanmamıştır. Beş adet kültür yöntemi ile pozitif örnekte ise PCR ile MRSA saptanmamıştır.¹⁹ Bu çalışmada kültür ile saptanamayan, ancak moleküler yöntem ile MRSA'nın tespit edildiği sonuçlar olmuştur. Bu durumun; hastaların daha önceden aldığı antibiyotik tedavisinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ek olarak, PCR yöntemindeki olası inhibisyonun kaynaklanan moleküler yöntemin saptayamadığı, ancak konvansiyonel kültür yönteminde tespit edilen izolatlar olduğu bildirilmiştir.

Snyder ve ark., yoğun bakımda yatan hastalardan topladıkları 639 nazal sürüntü örneğinde krom agar MRSA ve Becton-Dickinson GeneOhm MRSA yöntemlerini karşılaştırmışlardır. Çalışma sırasında 24 nazal örnekte inhibisyon olmuştur. Kırk beş örnek her iki yöntem ile pozitif bulunurken; 563 örnek her iki yöntemde de negatif olarak saptanmıştır. Altmış dört örnek ise PCR ile pozitifdir; ancak bunların 44'ü krom agarda üremiştir. Becton-Dickinson GeneOhm MRSA testinin özgüllük ve pozitif prediktif değeri sırasıyla %96.7 ve %70.3'tür.²⁰ Araştırmacılara göre yoğun bakım birimlerinde aktif sürveyans programını desteklemek açısından bu

TABLO 3: Kültür ve PCR sonuçları.

Kültür sonucu	-Dickinson GeneOhm StaphSR test sonucu	n	%
Becton			
Normal flora üremesi olan	Negatif	35	71.4
MRSA üremesi olan	Pozitif	2	4.08
MRSA üremesi olan	Negatif	10	20.4
Normal flora üremesi olan	Pozitif	2	4.08

moleküler yöntem etkindir. Nazal taşıyıcılık açısından kromojenik besiyeri ile karşılaştırıldığında moleküler yöntem; %95'in üzerinde duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir. Yalancı pozitif sonuçların mecA kaybı ya da antistafilokokal antibiyotik kullanımı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Çalışılan birimdeki prevalans düşüklüğü de pozitif prediktif değerlerin azalmasına sebep olmaktadır. Ancak günlük çalışma sırasında moleküler yöntemin raporlama süresinin kromojenik besiyerine göre daha kısa olması önemli bir avantajdır.

Valle ve ark. yaptıkları çalışmada, yoğun bakımda yatan 95 hastadan topladıkları 246 adet nazal sürüntü örneğini MRSA saptanması açısından incelemiş ve bunun için konvansiyonel kültür ve Becton-Dickinson GeneOhm MRSA yöntemlerini karşılaştırmışlardır. Otuz altı (%14.6) örnekte (gerçek pozitifler) her iki yöntem ile MRSA saptanmıştır. Kolonize hastalar %30 oranında MRSA enfeksiyonu geliştirmiştir. Yirmi (%8.8) örnek (yalancı pozitifler) moleküler metot ile pozitif, ancak kültür yöntemi ile negatiftir. Bu çalışmada PCR yöntemi kültürden daha duyarlı saptanmıştır.²¹ Burada nazal kolonizasyonun; MRSA enfeksiyonu için önemli bir risk oluşturduğu ve direkt örnekten çalışılan moleküler yöntemin kısa sürede sonuç vererek bu durumun tespitinde önemli katkısı olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, laboratuvar iş yükü açısından da moleküler yöntemle sonuç verme zamanı kısalmaktadır.

Andriess ve ark. 404 hastanın preoperatif nazal sürüntü örneklerinde Roche Staphylococcus Kit on Lightcycler (Roche; RSA), Becton-Dickinson (San Diego, CA) GeneOhm StaphSR ve kültür yöntemini kullanarak *S. aureus* araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, Becton-Dickinson Gene Ohm StaphSR yönteminin altın standart ile karşılaştırıldığında duyarlılığı %85.6, özgüllüğü ise %99.3 olarak bildirilmiştir.²² Çalışmada incelenen her iki moleküler yöntemin düşük duyarlılık göstermesi bakteriyel yükün azlığına bağlanmıştır. Ayrıca benzer performans gösteren bu iki test; cerrahi işleme alınacak hastalarda preoperatif *S. aureus* araştırılması için uygun bulunmuştur.

Çalışmamızda, hem konvansiyonel kültür hem de PCR ile negatif olan örnek sayısı 35 (%71.4) (gerçek negatifler); her iki yöntem ile pozitif örnek sayısı ise 2 (%4.08) (gerçek pozitifler) olarak bulundu.

Duyarlılığımız (%16.7) çok düşük, ancak özgüllüğümüz (%94.6) yüksek bulunmuştur. Duyarlılığın düşük olması yalancı negatiflik oranının fazla olmasından kaynaklanabilir. Ayrıca, bakteriyel yükün az olması da duyarlılığı azaltabilmektedir. On (%20.4) örnekte (yalancı negatiflik) PCR negatif ve kültür pozitif saptanmıştır. Bu durum; PCR çalışılan örneklerdeki inhibitör maddelere bağlı *S. aureus* veya MRSA DNA'sı saptanamaması ile meydana gelebilir. Ayrıca, lizatların dondurup çözme ile PCR tekrarı sırasında inhibisyon meydana gelmiş olabilir. Testin negatif prediktif değeri %77.7 ve pozitif prediktif değeri ise %50 olarak bulunmuştur. Pozitif prediktif değerlerin düşüklüğü örneklerin toplandığı hasta grubunda MRSA prevalansının düşüklüğüne bağlı olabilir. İki örnek PCR ile pozitif iken; kültürde MRSA saptanamamıştır. Bu durum ise; kültür örneğinde üreme için yeterli bakteri sayısının bulunmamasına bağlı olabilir. Ek olarak, örnekteki bazı maddeler veya antibiyotikler kültürde üremeyi engellemiş olup moleküler yöntem için inhibisyon meydana getirmemiş olabilir. Ayrıca, *S. aureus* orf X ile bazı *S. epidermidis* orf X bölgelerinin benzerliği nedeni ile yalancı pozitiflik görülebilir. Bunun yanı sıra mecA'nın kaybedilmesine rağmen test tarafından hedeflenen SCCmec sağ bileşke dizisi yerinde kaldığı için yalancı pozitiflik meydana gelebilmektedir.^{17,23}

Düşük MRSA prevalansı olan durumlarda; moleküler yöntem ile MRSA negatifliği hızla saptanabilir; ancak pozitif sonuçların kültür ile doğrulanması gereklidir.¹⁸

Becton-Dickinson GeneOhm StaphSR moleküler yöntemi, Becton-Dickinson GeneOhm MRSA metodu ile aynı hedef bölgeyi kullanmaktadır. Bu yöntem, multipleks gerçek zamanlı PCR yöntemidir ve "Food and Drug Administration (FDA)" tarafından pozitif kan kültürü için onay almıştır. Nazal sürüntü ve yara örnekleri için de kullanılabilir. Ayrıca, MRSA ve MSSA ayırımını da sağlamaktadır. mecA içermeyen *S. aureus* amplifikasyonu sonucunda yalancı MRSA pozitifliği meydana gelebilmektedir. Pozitif kan kültüründen bu yöntemle MRSA saptanmasına yönelik yapılan bir çalışmada, duyarlılık %100 ve özgüllük %98.4 olarak bildirilmiştir.^{24,25}

Diyaliz yöntemlerindeki ilerlemelere karşın, *S. aureus* enfeksiyonları hemodiyaliz hastalarında halen mortalite ve morbiditenin en önemli nedenleri arasında yerini korumaktadır. *S. aureus* burun taşıyıcılığının bu enfeksiyonların patogenezi ve epide-miyolojisinde anahtar rol oynadığı gösterilmiştir. Bu nedenle hemodiyaliz hastalarının *S. aureus* taşıyıcılığı açısından periyodik olarak taranması, hızlı bir şekilde saptanması, taşıyıcı olan hastalarda anti-mikrobiyal tedavi ile mikroorganizmanın eradikas-yonunun sağlanması sayesinde bu hastalarda gelişebilecek enfeksiyonların sıklığının azaltılabi-leceğini düşünmekteyiz. Direkt olarak örnekten ça-lışma sağlayan bu hızlı moleküler yöntemler kısa sürede raporlama sağlarken, bu sonuçların çeşitli nedenlere bağlı olarak gelişebilecek yalancı pozitiflik veya negatiflik durumları olabileceği göz önün-

de bulundurulmalıdır. Gerektiği takdirde düşük prevalansı olan birim sonuçlarındaki pozitiflikler konvansiyonel kültür ile doğrulanmalıdır.

SONUÇ

MRSA enfeksiyonlarının gelişmesinde en önemli risk faktörü hastanede yatış süresi ve nazal koloni-zasyondur. Konvansiyonel kültür yöntemleri ile *S. aureus* üremesi, identifikasyonu, doğrulama testle-ri veya metisilin direnç testi için en az 24-48 saat gerekmektedir. Klinik örnekten direkt olarak ça-lışan moleküler testler ise çok daha kısa sürelerde so-nuç verebildiğinden bu testlere ihtiyaç duyul-maktadır. Ancak yalancı pozitiflikler de olabil-mektedir. Bu nedenle ileri araştırmalara ve kon-vansiyonel kültür yöntemi ile moleküler test sonuçlarının doğrulanmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Bannerman TL. Staphylococcus, Micrococcus, and other Catalase-positive Cocci that grow aerobically. In: Murray P, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller M, Tenover FC, eds. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. Washington: ASM Press; 2003. p.384-404.
- Telli M, Sümerkan B, Eşel D. [Comparison of cefoxitin disk, oxacillin disk, oxacillin agar screen and Pbp2a latex tests for detection of methicillin resistance in Staphylococcus aureus]. İnfeksiyon Dergisi 2006;20(2):93-6.
- Dulon M, Haamann F, Peters C, Schablon A, Nienhaus A. MRSA prevalence in European healthcare settings: a review. BMC Infectious Diseases 2011; 11(1):138.
- Stürenburg E. Rapid detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus directly from clinical samples: methods, effectiveness and cost considerations. German Medical Science 2009, Vol. 7, ISSN 1612-3174.
- Peterson LR. Rapid diagnosis of community-acquired MRSA. Clinical Updates in Infectious Diseases 2008;XI(3):1-4.
- Wielders CL, Vriens MR, Brisse S, de Graaf-Miltenburg LA, Troelstra A, Fleer A, et al. In-vivo transfer of mecA DNA to Staphylococcus aureus [corrected]. Lancet 2001;357(9269): 1674-5.
- Lowy FD. Staphylococcus aureus infections. N Engl J Med 1998;339(8):520-32.
- Valls V, Gómez-Herruz P, González-Palacios R, Cuadros JA, Romanyk JP, Ena J. Long-term efficacy of a program to control methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994;13(1):90-5.
- Waldvogel FA. Staphylococcus aureus (including staphylococcal toxic shock). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. p. 2069-92.
- Şencan İ, Kaya D, Çatakoğlu N, Şahin İ, Bahtiyar Z, Yıldırım M. [Nasal carriage of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in hemodialysis patients]. İnfeksiyon Dergisi 2003;17(1):31-4.
- Chow JW, Yu VL. Staphylococcus aureus nasal carriage in haemodialysis patients; its role in infection and approaches to prophylaxis. Arch Intern Med 1989;149(6):1258-62.
- Kaplowitz LG, Comstock JA, Landwehr DM, Dalton HP, Mayhall CG. Prospective study of microbial colonization of the nose and skin and infection of the vascular access site in hemodialysis patients. J Clin Microbiol 1988; 26(7):1257-62.
- Cosgrove SE. The relationship between antimicrobial resistance and patient outcomes: mortality, length of hospital stay, and health care costs. Clin Infect Dis 2006;42(Suppl 2):S82-S9.
- Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: 17th Informational Supplement M100-S17. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2007.
- Kurutepeler S, Ecem T, Sürücüoğlu S, Kürşat S, Öz-bakkaloğlu B. [Nasal Staphylococcus aureus carriage in hemodialysis patients and antibiotic resistance of the strains]. ANKEM Dergisi 2005;19(2):88-91.
- Erdem İ, Barut Özel Y. [In vitro susceptibility of nasal Staphylococcus aureus strains isolated from haemodialysis patients against various antimicrobial agents]. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2002;22(1):47-9.
- Malhotra-Kumar S, Haccuria K, Michiels M. Current trends in rapid diagnostics for methicillin-resistant Staphylococcus aureus and glycopeptide-resistant enterococcus species. Minireview. J Clin Microbiol 2008;46(9):1577-87.
- Daeschlein G, Assadian O, Daxboeck F, Kramer A. Multiplex PCR-ELISA for direct detection of MRSA in nasal swabs advantageous for rapid identification of non-MRSA carriers. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2006;25(5):328-30.
- Bischof LJ, Lapsley L, Fontecchio K, Jacosalem D, Young C, Hankerd R, et al. Comparison of chromogenic media to BD GeneOhm methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) PCR for detection of MRSA in nasal swabs. J Clin Microbiol 2009; 47(7):2281-83.
- Snyder JW, Munier GK, Johnson CL. Comparison of the BD GeneOhm methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) PCR assay to culture by use of BBL CHROMagar MRSA for detection of MRSA in nasal surveillance cultures from intensive care unit patients. J Clin Microbiol 2010;48(4):1305-9.
- Valle CD, Pasca MR, De Vitis D, Marzani FC, Emmi V, Marone P. Control of MRSA infection and colonisation in an intensive care unit by GeneOhm MRSA assay and culture methods. BMC Infect Dis 2009;9:137.
- Andriessse GI, van Rijen M, Bogaers D, Bergmans AMC, Kluytmans JAJW. Comparison of two PCR-based methods and conventional culture for the detection of nasal carriage of Staphylococcus aureus in pre-operative patients Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2009; 28(10):1223-6.
- Gülçay Z. [Rapid diagnostic methods for the control of multi-drug resistant nosocomial microorganisms]. ANKEM Dergisi 2009;23(Ek 2):193-200.
- Carroll KC. Rapid diagnostics for methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Mol Diag Ther 2008; 12(1):15-24.
- Stamper PD, Cai M, Howard T, Spenser S, Carroll KC. Clinical validation of the molecular BD Gene-Ohm StaphSR assay for direct detection of Staphylococcus aureus and based assay for epidemiological study of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in positive blood cultures. J Clin Microbiol 2007; 45(7): 2191-6.