

## Diagnostic value of cefoxitin susceptibility test compared with other diagnostic methods of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Rezaei M<sup>1</sup>, Moniri R<sup>2,3\*</sup>, Piroozmand A<sup>3</sup>, Mousavi GA<sup>4</sup>

1- Student Research Committee, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R, Iran.

2- Anatomical Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R, Iran.

3- Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R, Iran.

4- Trauma Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R, Iran.

Received September 8, 2012; Accepted July 14, 2013

### Abstract:

**Background:** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the most important pathogen in the hospital and community. Therefore, a precise identification of the antibiotic-resistant strains is essential to control the infection and prevent the MRSA transmission rates. The aim of this study was to determine a diagnostic value of cefoxitin susceptibility test compared with the oxacillin susceptibility test and E-test (Epsilometer test) for detection of MRSA.

**Materials and Methods:** This study was conducted on 296 *S.aureus* isolated from the nasal specimen patients of referred to emergency department of Kashan Shahid-Beheshti hospital. Resistance to methicillin was determined by oxacillin (1µg), and cefoxitin (30µg) disk diffusion methods based on CLSI guideline and according to no growth zone size and the minimum inhibitory antibiotic concentration by E-test. PCR assay was used as a gold standard for detecting *mecA* gene in MRSA isolates.

**Results:** Thirty-two (10.8%), 28 (9.5%), 30 (10.1%), 26 (8.8%) out of 296 *S.aureus* were considered as MRSA strains using the oxacillin and cefoxitin disk diffusion methods, E-test and PCR, respectively. Sensitivity, specificity, positive and negative predictive values for the oxacillin diffusion method were 100%, 97.7%, 81.2% and 100%; for the cefoxitin disk diffusion method 96.2%, 98.8%, 89.3% and 99.6% and for E-test 100%, 98.5%, 86.7% and 100%, respectively.

**Conclusion:** PCR assay is the best method for detecting MRSA; however, it is an expensive method. Phenotypic methods, especially the cefoxitin disk diffusion method, can be a good alternative to PCR for detection of MRSA.

**Keywords:** MRSA, Oxacillin disk diffusion, Cefoxitin disk diffusion, E-test, PCR

\* Corresponding Author.

Email: moniri@kaums.ac.ir

Tel: 0098 913 361 2636

Fax: 0098 361 555 1112

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences September, 2013; Vol. 17, No 4, Pages 394-399

Please cite this article as: Rezaei M, Moniri R, Piroozmand A, Mousavi GA. Diagnostic value of cefoxitin susceptibility test compared with other diagnostic methods of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Feyz 2013; 17(4): 394-9.

# ارزش تشخیصی روش حساسیت به سفوکسیتین نسبت به سایر روش‌های تشخیص استافیلوکوک ارئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین

مریم رضابی<sup>۱</sup>، رضوان منیری<sup>۲\*</sup>، احمد پیروزمند<sup>۳</sup>، سید غلامعباس موسوی<sup>۴</sup>

## خلاصه:

سابقه و هدف: استافیلوکوک ارئوس مقاوم به متی‌سیلین از مهم‌ترین پاتوژن‌های موجود در بیمارستان و جامعه است. از این روش تشخیص دقیق سویه‌های مقاوم به منظور کنترل و پیشگیری عفونت‌های ناشی از آن ضروری است. هدف از این مطالعه، تعیین کارآیی تست حساسیت به سفوکسیتین نسبت به E-test و تست حساسیت به اگزاسیلین در تشخیص استافیلوکوک ارئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه ارزش تشخیصی بر روی ۲۹۶ سویه استافیلوکوک ارئوس جدا شده از بینی بیماران مراجعه کنندگان به بخش اورژانس بیمارستان شهید بهشتی کاشان انجام پذیرفت. مقاومت به متی‌سیلین به روش دیسک دیفیوژن با اگزاسیلین  $\mu\text{g}$  ۱ و سفوکسیتین  $\mu\text{g}$  ۳۰ طبق معیار CLSI و براساس سایز هاله عدم رشد و تعیین حداقل غلظت مهاری آنتی‌بیوتیک با استفاده از (Epsilometer test) تعیین گردید. تشخیص ژن *mecA* با PCR به عنوان روش استاندارد طلایب انجام گردید.

نتایج: ۳۲ ایزوله (۱۰/۸ درصد) توسط روش اگزاسیلین دیسک دیفیوژن، ۲۸ ایزوله (۹/۵ درصد) توسط روش سفوکسیتین دیسک دیفیوژن، ۳۰ ایزوله (۱۰/۱ درصد) توسط E-test و ۲۶ ایزوله (۸/۸ درصد) توسط PCR به عنوان سویه مقاوم (MRSA) شناخته شدند. حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی برای تست‌های اگزاسیلین دیسک دیفیوژن به ترتیب ۱۰۰، ۸۱/۲، ۹۷/۷ و ۱۰۰ درصد، برای سفوکسیتین دیسک دیفیوژن به ترتیب ۹۶/۲، ۹۸/۸، ۹۶/۳، ۸۹/۳ و ۹۹/۶ درصد و برای E-test ۱۰۰، ۹۸/۵، ۱۰۰ و ۸۶/۷ درصد تعیین گردید.

نتیجه‌گیری: علی‌رغم پرهزینه بودن، بهترین روش برای شناسایی MRSA روش PCR است. روش‌های فنوتیپی، به خصوص روش سفوکسیتین دیسک دیفیوژن می‌تواند جایگزین مناسبی برای PCR در تشخیص MRSA باشد.

واژگان کلیدی: استافیلوکوک ارئوس مقاوم به متی‌سیلین، اگزاسیلین دیسک دیفیوژن، سفوکسیتین دیسک دیفیوژن، E-test، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

دو ماهنامه علمی- پژوهشی فیض، دوره هفدهم، شماره ۴، مهر و آبان ۱۳۹۲، صفحات ۳۹۹-۳۹۴

طی ۴۰ سال گذشته عفونت‌های ناشی از MRSA به صورت عفونت اندمیک در بیمارستان‌های نقاط مختلف جهان مطرح می‌باشد [۴،۳]. به طور معمول کلوبنیزاسیون/استافیلوکوکوس/ارئوس در بینی ۲۰ درصد از افراد جمعیت دیده می‌شود که این امر به عنوان یک ریسک فاکتور برای ابتلا و یا توسعه عفونت‌های ثانویه ناشی از استافیلوکوک ارئوس، به شمار می‌آید [۵-۹]. مقاومت استافیلوکوک ارئوس به متی‌سیلین، به دنبال کسب ژن *mecA* ایجاد می‌شود [۱۰]. این ژن کد کننده پروتئین 2a متعلق شونده به پنی‌سیلین (Penicillin binding protein 2a; PBP2a) با میل ترکیبی پایین می‌باشد. حضور ژن *mecA* منجر به بروز استافیلوکوک ارئوس مقاوم به متی‌سیلین و عدم حضور آن استافیلوکوک ارئوس‌های حساس به متی‌سیلین را ایجاد می‌کند. به دلیل اینکه میزان بیان ژن *mecA* در گونه‌های استافیلوکوک ارئوس مقاوم به متی‌سیلین یکسان نیست، تشخیص این گونه‌ها ممکن است دشوار باشد. گونه‌های حاوی ژن *mecA* مقاومت خود نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتم را به صورت مشابه (homogenous) یا غیر مشابه (heterogeneous) نشان می‌دهند. در بیان غیر مشابه

## مقدمه

استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*; MRSA) مهم‌ترین پاتوژن بیمارستانی در جهان می‌باشد [۱]. در ابتدا این باکتری از بیمارستان‌ها و خانه سالماندان جدا شد، ولی امروزه در جامعه ظهور کرده و به عنوان یک مشکل جهانی مطرح می‌باشد [۲].

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۲. استاد، مرکز تحقیقات علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۳. استاد، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۴. دانشیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۵. مریبی، مرکز تحقیقات تروما، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

\* لشانی نیسلنده مسئول؛

کاشان، کیلومتر ۵ بلوار قطب راوندی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، مرکز تحقیقات علوم تشریح

تلفن: ۰۳۶۱۵۵۵۱۱۱۲،

پست الکترونیک: moniri@kaums.ac.ir

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۲/۴/۲۳

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۱۸

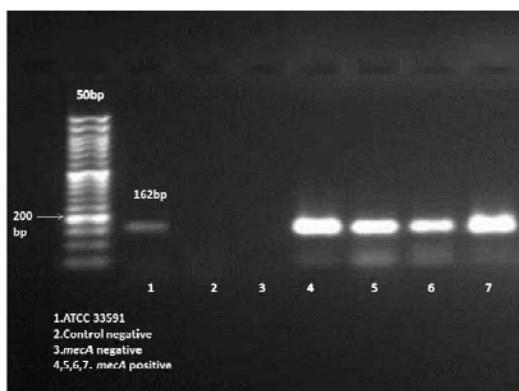
داده شدند و برای ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. بعد از این مدت، کلونی هایی که مشابه کلونی های استافیلوکوک ارثوس بودند، توسط تست های رنگ آمیزی گرم، کاتالاز، اکسیداز، کواکولاز و بررسی ویژگی های رشد روی محیط مانیتول سالت آگار (Merck) مورد بررسی و تایید قرار گرفتند [۳]. جهت تعیین استافیلوکوک ارثوس های مقاوم به متی سیلین به روش دیسک دیفیوژن، یک سوسپانسیون باکتری از کشت ۱۸-۲۴ ساعته با کدورتی معادل کدورت نیم مک فارلند تهیه گردیده و از این سوسپانسیون روی محیط مولر هیبتون آگار (Merck) کشت داده شد. دیسک های اگزاسیلین ۱ میکرو گرمی و دیسک سفوکستین ۳۰ میکرو گرمی (Mast) را روی محیط قرار داده و محیط ها ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردیدند. بر اساس معیار CLSI، در مورد اگزاسیلین، سویه هایی که هاله عدم رشد آنها کمتر از ۱۰ میلی متر بود، به عنوان استافیلوکوک ارثوس های مقاوم به اگزاسیلین در نظر گرفته شدند و در مورد سفوکستین، سویه هایی که هاله عدم رشد آنها کمتر یا مساوی ۲۱ میلی متر بود، به عنوان سویه مقاوم به سفوکستین شناخته شدند [۱۵]. از سویه استافیلوکوک ارثوس ATCC33591 به عنوان کنترل مثبت و سویه استافیلوکوک ارثوس ATCC۲۵۹۲۳ به عنوان کنترل منفی استفاده شد. به منظور تعیین حداقل غلظت مهاری گونه های استافیلوکوک ارثوس مقاوم به متی سیلین از روش E-test استفاده شد. در این روش یک سوسپانسیون باکتری از کشت ۱۸-۲۴ ساعته با کدورتی معادل کدورت نیم مک فارلند تهیه گردیده و از این سوسپانسیون روی محیط مولر هیبتون آگار کشت داده شد و در نهایت یک نوار E-test روی این محیط قرار داده شد. بر اساس معیار CLSI، حداقل غلظت مهاری  $\geq$  ۲ حساس و حداقل غلظت مهاری  $\geq 4$  مقاوم در نظر گرفته شد. استخراج DNA ژنومی به روش جوشاندن انجام پذیرفت [۱۶]. استخراج شده در آب مقطر دی یونیزه و در فریزر -۲۰ درجه سلسیوس ذخیره گردید. برای تکثیر و شناسایی قطعه meCA از پرایمری که در مطالعه غزنوی راد و همکاران گزارش شده بود، استفاده به صورت توالي الیگو نوکلئوتیدی پرایمر مورد استفاده به صورت F: ۵' TCCAGATTACAACCTCACCAAGG ۳'  
R: ۵' CCACTTCATATCTTGTAAACG ۳'

و سایز محصول PCR ۱۶۲ bp بود [۱۷]. جهت انجام آزمون PCR ۲۵ میکرولیتر از مخلوط PCR حاوی ۲/۵ میکرولیتر از بافر X ۱/۵، ۱۰ میلی مول (۰/۷۵ میکرولیتر) از ۰/۵ MgCl<sub>2</sub>، ۰/۵ میکرومول (۰/۵ میکرولیتر) از هر پرایمر، ۵ نانو گرم (۵ میکرو لیتر) از DNA الگو و

تعداد کمی از باکتری ها، یک در  $10^4$  یا  $10^5$  باکتری، این ژن را بیان می کنند [۱۱]. بیان غیر مشابه مقاومت، معمولاً منجر به بروز حداقل غلظت مهاری می شود که باکتری را در گروه باکتری های حساس MRSA در سرتاسر جهان رو به افزایش است و همین امر اهمیت تشخیص این گونه ها بدمنظور اهداف درمانی و اپیدمیولوژیکی را، بیش از پیش مطرح می کند. از این رو روش هایی که برای تشخیص گونه های MRSA در نمونه های کلینیکی به کار می روند، باید حساسیت و اختصاصیت بالایی داشته و در مدت زمان کوتاهی قادر به تشخیص گونه های MRSA باشند [۱۳]. روش های مختلفی برای شناسایی گونه های MRSA وجود دارد که از آن جمله می توان به تکثیر ژن meCA توسط روش PCR، بررسی الگوی مقاومت نسبت به اگزاسیلین و سفوکستین توسط روش دیسک دیفیوژن و تعیین MIC اگزاسیلین با استفاده از Etest اشاره کرد. حساسیت این روش ها به ترتیب ۹۶/۴، ۹۷/۴ و ۹۱/۶ درصد گزارش شده است [۱۵، ۱۴]. در آزمایشگاه های بالینی معمولاً از روش های فتوتیپی برای تشخیص گونه های استافیلوکوک ارثوس مقاوم به متی سیلین استفاده می شود که این روش ها قادر به تشخیص دقیق همه گونه های مقاوم نمی باشند. فاکتور های مختلفی مثل زمان انکوباسیون، دمای انکوباسیون، آنتی بیوتیک بتالاکتان مورد تست، pH محیط کشت و غلظت نمک تاثیر زیادی در بیان ژن مقاومت و در نتیجه تشخیص باکتری مقاوم دارد. از این رو تست هایی که بر اساس تشخیص ژنوتیپی می باشند، دقت بیشتری نسبت به روش های فتوتیپی دارند. ژن meCA در گونه های استافیلوکوک به خوبی حفظ شده و تشخیص این ژن توسط PCR به عنوان روش استاندارد طلایی مطرح است [۱۱]. هدف از این مطالعه، تعیین حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی تست حساسیت به سفوکستین نسبت به تست حساسیت به اگزاسیلین، و E-test در تشخیص استافیلوکوک ارثوس های مقاوم به متی سیلین می باشد.

## مواد و روش ها

این مطالعه ارزش تشخیصی بر روی ۲۹۶ ایزو له استافیلوکوک ارثوس مقاوم به متی سیلین جدا شده از بینی مراجعه کنندگان بخش اورژانس بیمارستان شهید بهشتی کاشان انجام پذیرفت. نمونه گیری با استفاده از سواب استریل آغشته به سرم فیزیولوژی از هر دو بینی ۸۱۰ نفر از مراجعه کنندگان اورژانس انجام شد. بعد از جمع آوری، نمونه ها در شرایط استریل در محیط ترانسپورت به آزمایشگاه میکروب شناسی انتقال یافت. نمونه ها ابتدا روی محیط بلا د آگار حاوی ۵ درصد خون گوسفند کشت



تصویر شماره ۱- الکتروفورز تکثیر ژن mecaA توسط PCR

### بحث

نتایج حاصل از مطالعه ما نشان داد که روش های حساسیت به سفوکسین و E-test ۱۰۰ درصد حساسیت داشتند. روش های فوتیپی مورد بررسی در مقایسه با روش استاندارد طلایی از حساسیت و ویژگی مطلوبی برخوردار هستند. در بین این روش ها، روش سفوکسین دیسک دیفیوژن بالاترین ارزش اخباری مثبت را داشت. با توجه به روند رو به افزایش عفونت های ناشی از MRSA، تشخیص دقیق و سریع استافیلوکوک ارئوس های مقاوم به متی سیلین به منظور انتخاب درمان آنتی بیوتیکی مناسب برای هر فرد و علاوه بر این کنترل همه گیری های MRSA ضروری است [۱۸]. برخی مطالعات اخیر، استفاده از تست حساسیت به سفوکسین به منظور شناسایی سویه های MRSA را دقیق تر از استفاده از تست حساسیت به اگزاسیلین ذکر کرده اند [۱۲]. نتایج حاصل از مطالعه ما با این گزارشات هم خوانی دارد. در مطالعه ما دو سویه از سویه های MRSA که در روش دیسک دیفیوژن مقاوم به اگزاسیلین اما حساس به سفوکسین گزارش شدند، قادر ژن meca بوده و در روش E-test نیز در گروه استافیلوکوک ارئوس های حساس به متی سیلین قرار گرفتند. در این مطالعه نتایج حاصل از روش دیسک دیفیوژن، نزدیک به نتایج PCR بود، اما در مطالعه ای که در هند انجام شد، نتایج حاصل از این دو روش کاملاً با هم مطابقت داشتند [۱۲]. روش های فوتیپی از جمله دیسک دیفیوژن بشدت تحت تاثیر عواملی مثل دمای انکوباسیون، مدت زمان انکوباسیون و ترکیبات محیط کشت می باشند و این امر می تواند منجر به ایجاد تفاوت بین نتایج حاصل از این تست ها با روش استاندارد طلایی شود. نتایج حاصل از E-test در مقایسه با روش دیسک دیفیوژن، شباهت بیشتری به نتایج حاصل از PCR داشت که این امر بیان گر دقت بیشتر این روش نسبت به روش دیسک دیفیوژن است. در مطالعه انجام شده در ترکیه نیز به حساسیت و اختصاصیت بالای این روش اشاره شده و E-test

(همه مواد از سینا کلون) بود که با ۱۴ میکرولیتر آب دیونیزه به حجم ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. از سویه استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 33591 به عنوان کنترل مثبت و از مخلوط PCR که قادر DNA ژنومی است، به عنوان کنترل منفی برای ژن meca استفاده شد. پروتوكل حرارتی PCR به صورت دناتوراسیون اولیه در ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه و سپس ۳۰ سیکل شامل دناتوراسیون در ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال پرایمر در ۵۷ درجه سلسیوس به مدت ۹۰ ثانیه، طویل شدن زنجیره در ۷۲ درجه به مدت ۹۰ ثانیه و مرحله طویل شدن نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت (Mastercycler gradient; ۱۰ دقیقه در ترموسایکلر Eppendorf, Germany) انجام پذیرفت. ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR همراه با بافر Loading در ژل آگاروز ۱/۸ درصد ۰/۵ µL/ml اتیدیوم بروماید به آن اضافه گردید. جهت رنگ آمیزی، هنگام تهیه ژل Gel Documentation (Ingenius, syngene, USA) آن عکس تهیه گردید. از مارکر ۵۰ bp (سینا کلون) جهت تعیین اندازه باند مورد نظر استفاده شد. تشخیص MRSA با PCR، به عنوان استاندارد طلایی در نظر گرفته شد.

### نتایج

نتایج حاصل از روش دیسک دیفیوژن نشان داد که ۳۲ ایزوله (۱۰/۸) از ۲۹۶ نمونه استافیلوکوک ارئوس جدا شده از بینی شرکت کنندگان در مطالعه مقاوم به اگزاسیلین و ۲۸ ایزوله (۹/۵) درصد مقاوم به سفوکسین بودند. با استفاده از روش Etest ۳۰ ایزوله (۱۰/۱ درصد) دارای حداقل غلظت مهاری مساوی با پیش از ۴ بودند و به عنوان MRSA شناخته شدند. ژن meca در ۲۶ ایزوله (۸/۸ درصد) از ۲۹۶ استافیلوکوک ارئوس دیده شد (تصویر شماره ۱). حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی مربوط به تست های حساسیت به اگزاسیلین، حساسیت به سفوکسین و E-test در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

جدول شماره ۱- حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی تست حساسیت به اگزاسیلین، حساسیت به سفوکسین و E-test

تست	حساسیت	ویژگی	ارزش اخباری	ارزش اخباری	مشتبه (%)	منفی (%)
حساسیت به اگزاسیلین	۱۰۰	۸۱/۲	۹۷/۸	۱۰۰		
حساسیت به سفوکسین	۹۹/۶	۸۹/۳	۹۸/۸	۹۶/۲		
E-test	۱۰۰	۸۶/۷	۹۸/۵	۱۰۰		

توجه به نتایج حاصل از مطالعه ما روش‌های فنوتیپی نیز می‌توانند در آزمایشگاه‌های بالینی مورد استفاده قرار گیرند. بهترین روش شناسایی فنوتیپی MRSA که به طور معمول در آزمایشگاه‌ها قابل استفاده می‌باشد، با توجه به کم هزینه بودن و بر طبق معیار CLSI E-test و سفوکستین دیسک دیفیوژن می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

باتوجه به این که این سه روش از نظر حساسیت (۱۰۰٪، ۹۶٪ و ۱۰۰ درصد) و ویژگی (۹۷/۸ و ۹۸/۸ و ۹۸/۵ درصد) و ارزش اخباری منتهی (۱۰۰٪ و ۹۹/۶ و ۱۰۰ درصد) به هم نزدیک‌اند، اما ارزش اخباری مثبت سفوکستین نسبت به اگراسیلین ۸۹٪ به ۸۱ درصد است و بالاترین ارزش اخباری مثبت را دارد، می‌توان این روش را به عنوان جایگزین مناسبی برای PCR در آزمایشگاه‌های بالینی انتخاب کرد.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد بوده و با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان تحت شماره طرح مصوب ۹۰۵۴ انجام شده است.

به عنوان روش دقیقی که در آزمایشگاه‌های بالینی قابل استفاده است، معرفی کرده‌اند [۱۱]. در مطالعه Felten و همکاران روش E-test قادر به شناسایی همه گونه‌های MRSA نبود [۱۴]. حساسیت و ویژگی تست حساسیت به اگراسیلین در مطالعه ما نزدیک به حساسیت و ویژگی ذکر شده در مطالعه هند (حساسیت ۱ درصد، ویژگی ۱۰۰ درصد) و تونس (حساسیت ۹۰/۴ درصد، ویژگی ۹۹/۱ درصد) بود [۱۹، ۱۸]. اما در مطالعه‌ای که توسط Anand تست ۸۷/۵ درصد گزارش گردید که کمتر از حساسیت محاسبه شده در مطالعه ما بود [۱۲]. حساسیت و ویژگی محاسبه شده برای تست حساسیت به سفوکستین نزدیک به حساسیت و ویژگی ذکر شده در ۲ مطالعه انجام شده در هند (حساسیت ۱۰۰ درصد، ویژگی ۱۰۰ درصد) و تونس (حساسیت ۹۶/۵ درصد، ویژگی ۱۰۰ درصد) مشاهده شد [۱۹، ۱۸، ۱۲]. بر اساس اطلاعات ما مقایسه این روش‌ها، تا کنون در ایران انجام نگرفته و این مطالعه اولین گزارش در این زمینه می‌باشد. امروزه، شناسایی *mecA* به روش PCR بهترین و دقیق‌ترین روش برای شناسایی سویه‌های MRSA عنوان شده [۱۹] و نتایج حاصل از مطالعه ما نیز این امر را تایید می‌کنند. با این وجود، استفاده از PCR به دلیل پر هزینه بودن این روش تنها محدود به برخی از آزمایشگاه‌های تخصصی است؛ لذا، با

### References:

- [1] Lowy FD. Staphylococcus aureus infections. *N Engl J Med* 1998; 339(8): 520–32.
- [2] Lina G, Durand G, Berchich C, Short B, Meugnier H, Vandenesch F, et al. Staphylococcal chromosome cassette evolution in *Staphylococcus aureus* inferred from ccr gene complex sequence typing analysis. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12(12): 1175–84.
- [3] Lu SY, Chang FY, Cheng CC, Lee KD, Huang YC. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization among Adult Patients Visiting Emergency Department in a Medical Center in Taiwan. *PLoS ONE* 2011; 6(6): e18620.
- [4] Fluit AC, Wielders CL, Verhoef J, Schmitz FJ. Epidemiology and susceptibility of 3,051 *Staphylococcus aureus* isolates from 25 university hospitals participating in the European SENTRY study. *J Clin Microbiol* 2001; 39(10): 3727–32.
- [5] Al-Rawahi GN, Schreuder AG, Porter SD, Roscoe DL, Gustafson R, Bryce EA. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage among Injection Drug Users: Six Years Later. *J Clin Microbiol* 2008; 46(2): 477–9.
- [6] Ruimy R, Maiga A, Armand-Lefevre L, Maiga I, Diallo A, Koumaré AK, et al. The Carriage Population of *Staphylococcus aureus* from Mali Is Composed of a Combination of Pandemic Clones and the Divergent Panton-Valentine Leukocidin-Positive Genotype ST152. 2008; *J Bacteriol* 190(11): 3962–8.
- [7] Huang YC, Hwang KP, Chen PY, Chen CJ, Lin TY. Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization among Taiwanese Children in 2005 and 2006. *J Clin Microbiol* 2007; 45(12): 3992–5.
- [8] von Eiff C, Becker K, Machka K, Stammer H, Peters G. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *N Engl J Med* 2001; 344(1): 11–6.
- [9] Safdar N, Bradley EA. The risk of infection after nasal colonization with *Staphylococcus aureus*. *Am J Med* 2008; 121(4): 310–5.
- [10] Turlej A, Hryniwicz W, Empel J. Staphylococcal cassette chromosome *mec* (Sccmec) classification and typing methods: an overview. *Pol J Microbiol* 2011; 60(2): 95–103.
- [11] Ercis S, Sancak B, Hasçelik G. A comparison of PCR detection of *mecA* with oxacillin disk susceptibility testing in different media and sceptor automated system for both *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci isolates. *Indian J Med Microbiol* 2008; 26(1): 21–4.

- [12] 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.
- [13] Mathews AA, Thomas M, Appalaraju B, Jayalakshmi J. Evaluation and comparison of tests to detect methicillin resistant *S. aureus*. *Idian J Pathol Microbiol* 2010; 53(1): 79-82.
- [14] Felten A, Grandry 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.
- [15] Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. 2011; 31(1): M100-S21.
- [16] Adwan K, Jarrar N, Abu-Hijleh A, Adwan G, Awwad E, Salameh Y. Molecular analysis and susceptibility patterns of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains causing community- and health care-associated infections in the northern region of Palestine. *Am J Infect Control* 2013; 41(3): 195-8.
- [17] Ghaznavi-Rad E, Nor Shamsudin M, Sekawi Z, van Belkum A, Neela V. A simplified multiplex PCR assay for fast and easy discrimination of globally distributed staphylococcal cassette chromosome *mec* types in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol* 2010; 59(Pt 10): 1135-9.
- [18] Pramodhini S, Thenmozhiwalli PR, Selvi R, Dillirani V, Vasumathi A, Agatha D. Comparison of Various Phenotypic Methods and *mecA* Based PCR for the Detection of MRSA. *J Clin Diagn Res* 2011; (Suppl-2), Vol-5(7): 1359-62.
- [19] Boutiba-Ben Boubaker I, Ben Abbes R, Ben Abdallah H, Mamlouk K, Mahjoubi F, Kamoun A, 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.
- [20] Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. 2012; 32(3): M100-S21.