بررسی کارآمدی روش‌های دیسک دیپیوژن، آگاراسکرین و Real-time PCR در مقایسه با برای تشخیص استافیلوکوک‌های کواگولاژ منفی مقایسه به متی سپلین جدا شده از نمونه‌های کلینیکی بیمارستان‌های آموزشی شهرکرد ۱۳۸۷

چکیده

زمینه: استافیلوکوک‌های کواگولاژ منفی (CoNS) یکی از عوامل عفونت‌های بیمارستانی هستند. هدف از این مطالعه مقایسه کارآمدی روش‌های دیسک دیپیوژن، آگاراسکرین و Real-time PCR در مقایسه با وجود meca آنتی‌بیوتیک‌های کلینیکی است که پیرو شده است. استافیلوکوک‌های کواگولاژ منفی مقایسه به متی سپلین جدا شده با روش‌های دیسک و روش‌های E-test مقایسه با وجود meca آنتی‌بیوتیک‌های کلینیکی است.

مواد و روش‌ها: 88 از استافیلوکوک‌های کواگولاژ منفی از نمونه‌های بیمارستانی شهرکرد جدا شده. با روش‌های دیسک Real-time PCR، آنتی‌بیوتیک‌های کلینیکی است که پیرو شده است. مطالعه تایب روش‌های انجام شده با دنباله Real-time PCR و تایب آزمون دفع در نتیجه انجام گردید.

پایان‌نامه: از بین 88 از استافیلوکوک‌های کواگولاژ منفی، 24 مورد (27/3 درصد) حامل meca بودند و 64 مورد (72/7 درصد) نداشته‌اند. در این مطالعه روش‌های E-test و Real-time PCR مقایسه با وجود meca و تایب آزمون دفع در نتیجه انجام گردید.

تیتر: واثق کردن کلینیکی استافیلوکوک‌های کواگولاژ منفی مقایسه به متی سپلین، دیسک دیپیوژن، آگاراسکرین، Real-time PCR و E-test در مقایسه با وجود meca.

دریافت مقاله: ۳۰/۱۰/۸۷- پذیرش مقاله: ۱۲/۱۱/۸۷

E-mail: mrnafisi@yahoo.com
مقدمه

استافیلوککهای کواگولاژ منفی از عوامل عمدهی عفونت‌های بیمارستانی، پاتوژن فرم‌طلب بسیار مهم و عامل عفونت‌های جدی هستند (1 و 2). افزایش تعداد بیماران دارای نقش اینمی و کاربرد وسیع و سوال تهیه‌ای ابتدای عفونت‌های ناشی از این سویه‌ها را به شدت می‌کند. به علاوه موارد آنتی‌بیوتیکی مخصوص مافوق بیماری سیلیم در گونه‌های این باکتری، همچون سویه‌های استافیلوککوس اورتوس، رو به افزایش است.

از آنجا که درمان عفونت‌های ابتدای شده با این سویه‌ها به وسیله آنتی‌بیوتیک‌های گلیکوپیدی ترکیبی و گران فیم نیازمند است، تشخیص سریع آنها اهمیت می‌باشد (3).

آنتی‌بیوتیک‌ها با آنتی‌بیوتیک‌های بالاتانکم با مکانیسم کسب پلاسمید حاوی زن پالانکتامی و یا جهش‌های کروموزومی منفی می‌باشد که مورد اختیار موجب تغییر در پروتئین‌های موجود در دیواره سلول بakteری شده که پروتئین‌های باند شونده به پنی سیلیم معروفند (4).

مقدار و روش کار

از بین 284 مورد استافیلوککهای تیتر متوسط تعدادی از نمونه‌های کلینیکی (خون، خون، ادرار، CSF، درون رگی و غیره) بیمارستانی از آزمایشگاه‌های دانشگاهی و کانال‌های در سال 1387 جدای شدند. 88 مورد کواگولاژ گرم منفی با آرایش خوشه‌ای، تست کاتالاز، DNase، تست‌های کواگولاژ و CoNS (تنقیح شرکت داده شده) در این تحقیق توصیف داده شدند. برای تعیین سوئیه‌ها مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافوق مافق
روش‌های دیسک دیفیورز، اگراسیلین آکار اسکرین و استفاده شد. نتایج حسای استنیتو (CLSI) از دیسک اگراسیلین به چای می‌سیلین استفاده شد که در شرایط آزمایشگاهی بازارتر است (5). سوپرسپورس باکتری‌اکتیو‌کننده کووارولار مافی به محیط کشت مول هیون آگار تریفیش شد و بسیار دیسک اگراسیلین (E-test و Himedia-India). روى آن چاپشان شد. پلت را به‌مدت 18 تا 24 ساعت در °C 37 آنتی‌بیوتیک نموده و بعد از آن قطر عادم رشد اطراف دیسک اندازه‌گیری شد (مقادیر: 6-15mm). در روش اگراسیلین آگار اسکرین ابتدا استاتیفیکوک کووارولار مافی توسط سواب استریل از سوپرسپورس باکتری‌اکتیو‌کننده که محاسبه‌کننده به فاکتور تسک استفاده شد، و با رشد می‌کنیم و اگراسیلین (6) میکروکروم بر میلی‌لیتر اگراسیلین + (MHA+0.85%NaCl) کشت داده شد و (Himedia-India) و 24 ساعت در 37°C 25 مک فارلنگ بود. نمونه‌برداری شد و به‌طور پک‌ناپذیری بر روی محیط مول هیون آگار حاوی نمک و اگراسیلین (MHA+4%NaCl) تشک همجوشه‌گردید. سپس پریپ‌ها از نظر رشد بایر پریپ رشده و وجود یک کانونی نشان می‌دهد. در صورت عدم رشد و با رشد، تعداد کمی کلونی، مجدداً پریپ‌ها به‌مدت 24 ساعت در انکوباسیون قرار گرفته و نتایج نهایی بیش شد (7 و 8). برای تعیین کمترین غلظت مهارت‌کننده (MIC) E-test ابتدا توسط سواب استریل باکتری‌ای استافیلوکوکسیپه توسط اگراسیلین با شرایط باکتری‌اکتیو‌کننده کووارولار مافی که کعلید استفاده شد. 75 مک فارلنگ بود، نمونه‌برداری شده و به‌طور پک‌ناپذیری محیط E-test با مقدار MIC خاص تعیین گردید. 

**mecA**

**Ejamat**

برای پریپ و وجود زن Real-time PCR Romega جهت استخراج DNA از کبی meca (آمریکا) استفاده شد. و جونز زن با meca Magnesil مورد پرسی Taqman® Real-time PCR تکنیکی قرار گرفته. پریپ‌ها و پروپ استفاده شده به قرار بون (9):

meca A

5’ GGCATTATTACGCACCTCA 3’

meca C

5’ GTCTGCCACCTTCTCCTTG 3’

meca R

5’ AGATTTATGCACACTAATGGC AATC 3’

Probe

3’

مکروکروم بر میلی‌لیتر اگراسیلین + (MHA+0.85%NaCl) کشت داده شد و (Himedia-India) و 24 ساعت در 37°C 25 مک فارلنگ بود. نمونه‌برداری شد و به‌طور پک‌ناپذیری بر روی محیط مول هیون آگار حاوی نمک و اگراسیلین (MHA+4%NaCl) تشک همجوشه‌گردید. سپس پریپ‌ها از نظر رشد بایر پریپ رشده و وجود یک کانونی نشان می‌دهد. در صورت عدم رشد و با رشد، تعداد کمی کلونی، مجدداً پریپ‌ها به‌مدت 24 ساعت در انکوباسیون قرار گرفته و نتایج نهایی بیش شد (7 و 8). برای تعیین کمترین غلظت مهارت‌کننده (MIC) E-test ابتدا توسط سواب استریل باکتری‌ای استافیلوکوکسیپه توسط اگراسیلین با شرایط باکتری‌اکتیو‌کننده کووارولار مافی که کعلید استفاده شد. 75 مک فارلنگ بود، نمونه‌برداری شده و به‌طور پک‌ناپذیری محیط E-test با مقدار MIC خاص تعیین گردید. 

**mecA**

**Ejamat**

برای پریپ و وجود زن Real-time PCR Romega جهت استخراج DNA از کبی meca (آمریکا) استفاده شد. و جونز زن با meca Magnesil مورد پرسی Taqman® Real-time PCR تکنیکی قرار گرفته. پریپ‌ها و پروپ استفاده شده به قرار B&H4

meca A

5’ GGCATTATTACGCACCTCA 3’

meca C

5’ GTCTGCCACCTTCTCCTTG 3’

meca R

5’ AGATTTATGCACACTAATGGC AATC 3’

Probe

3’

مکروکروم بر میلی‌لیتر اگراسیلین + (MHA+0.85%NaCl) کشت داده شد و (Himedia-India) و 24 ساعت در 37°C 25 مک فارلنگ بود. نمونه‌برداری شد و به‌طور پک‌ناپذیری بر روی محیط مول هیون آگار حاوی نمک و اگراسیلین (MHA+4%NaCl) تشک همجوشه‌گردید. سپس پریپ‌ها از نظر رشد بایر پریپ رشده و وجود یک کانونی نشان می‌دهد. در صورت عدم رشد و با رشد، تعداد کمی کلونی، مجدداً پریپ‌ها به‌مدت 24 ساعت در انکوباسیون قرار گرفته و نتایج نهایی بیش شد (7 و 8). برای تعیین کمترین غلظت مهارت‌کننده (MIC) E-test ابتدا توسط سواب استریل باکتری‌ای استافیلوکوکسیپه توسط اگراسیلین با شرایط باکتری‌اکتیو‌کننده کووارولار مافی که کعلید استفاده شد. 75 مک فارلنگ بود، نمونه‌برداری شده و به‌طور پک‌ناپذیری محیط E-test با مقدار MIC خاص تعیین گردید. 

**mecA**

**Ejamat**

برای پریپ و وجود زن Real-time PCR Romega جهت استخراج DNA از کبی meca (آمریکا) استفاده شد. و جونز زن با meca Magnesil مورد پرسی Taqman® Real-time PCR تکنیکی قرار گرفته. پریپ‌ها و پروپ استفاده شده به قرار B&H4

meca A

5’ GGCATTATTACGCACCTCA 3’

meca C

5’ GTCTGCCACCTTCTCCTTG 3’

meca R

5’ AGATTTATGCACACTAATGGC AATC 3’

Probe

3’

مکروکروم بر میلی‌لیتر اگراسیلین + (MHA+0.85%NaCl) کشت داده شد و (Himedia-India) و 24 ساعت در 37°C 25 مک فارلنگ بود. نمونه‌برداری شد و به‌طور پک‌ناپذیری بر روی محیط مول هیون آگار حاوی نمک و اگراسیلین (MHA+4%NaCl) تشک همجوشه‌گردید. سپس پریپ‌ها از نظر رشد بایر پریپ رشده و وجود یک کانونی نشان می‌دهد. در صورت عدم رشد و با رشد، تعداد کمی کلونی، مجدداً پریپ‌ها به‌مدت 24 ساعت در انکوباسیون قرار گرفته و نتایج نهایی بیش شد (7 و 8). برای تعیین کمترین غلظت مهارت‌کننده (MIC) E-test ابتدا توسط سواب استریل باکتری‌ای استافیلوکوکسیپه توسط اگراسیلین با شرایط باکتری‌اکتیو‌کننده کووارولار مافی که کعلید استفاده شد. 75 مک فارلنگ بود، نمونه‌برداری شده و به‌طور پک‌ناپذیری محیط E-test با مقدار MIC خاص تعیین گردید.
جدول ۱: بازده روشهای فنوتیپ ترمیم حساسیت به مکس کروم و مقایسه آن با Real-time PCR

<table>
<thead>
<tr>
<th>تعادل ایزوله</th>
<th>Real-time PCR</th>
<th>مکس‌کروم بی‌میکوسین</th>
<th>آگراسلامین لات‌اگز اسکن</th>
<th>دیس دیفیژن</th>
<th>E-test</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>مثبت</td>
<td>۶۰</td>
<td>۶۰</td>
<td>۶۰</td>
<td>۶۰</td>
<td>۶۰</td>
</tr>
<tr>
<td>منفی</td>
<td>۰</td>
<td>۰</td>
<td>۰</td>
<td>۰</td>
<td>۰</td>
</tr>
<tr>
<td>نامعلوم</td>
<td>۲۸</td>
<td>۲۸</td>
<td>۲۸</td>
<td>۲۸</td>
<td>۲۸</td>
</tr>
</tbody>
</table>

بر حسب میکروورم مدلریک

جدول ۲: اعتبار روشهای مختلف در تعیین مقاومت به آگراسلامین (استاندارد طالب) در این تحقیق

<table>
<thead>
<tr>
<th>تعادل ایزوله</th>
<th>Real-time PCR</th>
<th>آگراسلامین (E-test)</th>
<th>دیس دیفیژن</th>
<th>WPGK (E-test)</th>
<th>حساسیت</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>ارزش اخباری منفی (%)</td>
<td>۱۰۰</td>
<td>۱۰۰</td>
<td>۱۰۰</td>
<td>۱۰۰</td>
<td>۱۰۰</td>
</tr>
<tr>
<td>ارزش اخباری مثبت (%)</td>
<td>۹۰</td>
<td>۹۰</td>
<td>۹۰</td>
<td>۹۰</td>
<td>۹۰</td>
</tr>
<tr>
<td>ویژگی (%)</td>
<td>۹۰</td>
<td>۹۰</td>
<td>۹۰</td>
<td>۹۰</td>
<td>۹۰</td>
</tr>
</tbody>
</table>

دما: ۳۰-۵۰C (۳۰ میلیووگالورها و ۰-۵ دقیقه)
بحث

شناسایی ازوله‌های استافیلوکوک مقاووم به متیلین در آزمایشگاه بعلت طبیعی تهیه‌کننده (هرتزون) و همکاران وجود متنگره‌های مؤثر در باین Zn (مثل: محیط، میزان pH، دما و غلظت نمک) امری پیچیده می‌باشد (10 و 11). تنا داده‌های جمعیت باکتری‌ها (به خصوص در CoNS مکانیسمی با Zn از نظر PBP2 هتروژننیستینی) بیشتر از PBP2 نشون می‌دهد. مقاومت نسبت به متیلین می‌تواند با مکانیسم‌های غیراپاره‌پذیره مثل تولید بیمار زیاد بالاترکم با وجود آید (12).

بنابر نتایج دوچندین مطالعه PCR روشن حساسیت و CoNS دقیق برای شناسایی مقاومت به متیلین در Real-time PCR می‌باشد (13 و 14). و در این مطالعه، مقاومت به PCR نسبت به Real-time PCR در این اثبات‌های انجام شده در آزمایشگاه‌های تخصصی انجام شده بر روی روش‌های فتوئتب (به مثابه مورد مورد کلام) به عنوان سیستم استاندارد آزمایشگاه‌های کلینیکی (CLSI). تست‌های فتوئتیر از آزمایشگاه را برای تعیین مقاومت به پنی بیلی ناز در گونه‌های باکتری‌ای CoNS توصیه می‌نمایند. با این تحقیق، نظریه‌بازی‌ها از دیدگاه دیگر، ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌های FNB یک نشانه از مطالعات. ارتباط میان این دسته‌ای از روش‌h
References:


Original Article

Comparison of the performance of Disk diffusion, Agar screening and E-test methods with Real-time PCR for the detection of methicillin resistant coagulase negative Staphylococcus strains isolated from clinical samples of Shahrekord university hospitals, 2008

L. Shariati 1,2, M. Validi 2, M. Shojapour 1,2, AM. Hasheminia 3, MA. Tabatabaiefar 2,4, A. Karimi 2, MR. Nafisi 2*

1Department of Molecular Medicine, School of Advanced Medical Technologies, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, IRAN
2Cellular and Molecular Research Center, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, IRAN
3Department of Internal Medicine, School of Nursing, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, IRAN
4Department of Medical Genetics, School of Medicine, Jondishapour University of Medical Sciences, Ahvaz, IRAN

Abstract

Background: Coagulase Negative staphylococci (CoNS) are nosocomial pathogens. The main objective of the study was to compare the performance of disk diffusion, E-test and agar screening methods with Real-time PCR technique for detection of methicillin resistance in coagulase negative staphylococci (MRCoNS), using Taqman® Real-time PCR for mecA as the “gold standard” comparison assay.

Methods: 88 coagulase negative Staphylococcus isolates were identified out of 284 Staphylococcus isolates collected from Hajar and Kashani hospitals-shahrekod, Iran. Methicillin resistance strains were identified by several methods: Disk diffusion, Agar screening, E-test and Real-time PCR. The results of the tested methods were compared with those of the Real-time PCR by Chi square or Fisher’s exact tests.

Results: Of the 88 coagulase negative Staphylococcus isolates tested, 46 isolates (52.3%) were mecA-positive and 42 isolates (47.7%) were mecA-negative. The results of all the tested methods had a statistically significant agreement with those of Real-time PCR. The E-test was 100% sensitive and specific for mecA presence. The sensitivity and specificity of oxacillin agar screen (6.0 µg/ml) method were 96% and 98%, respectively and the sensitivity and specificity of oxacillin Disk diffusion method were 91% and 90%, respectively.

Conclusion: In the present study, E-test is proposed as the best phenotypic method. In case economic issue matters, the oxacillin agar screening method (6.0 µg/ml), which is suitable for the detection of MRCoNS due to its accuracy and low cost, is recommended.

Keywords: methicillin resistant coagulase negative staphylococcus, disk diffusion, agar screen, E-test, mecA gene, real- time PCR