

دانشور پزشکی

مقایسه روش فنوتیپی سفوکسیتین دیسک دیفیوژن و PCR ژن *mecA* برای شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین

نویسندگان: ثاره سادات حسینی^۱، محمد نیاکان^{۲*}، حوریه صادری^۳ و محمد ایمان عینی^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲. استادیار میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۳. استاد میکروب‌شناسی مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی مولکولی، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۴. دانشیار میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه تهران، ایران

E-mail: niakan1@yahoo.com

* نویسنده مسئول: محمد نیاکان

چکیده

مقدمه و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، یکی از عوامل بیماری‌زای مهم در عفونت‌های حاصل از استافیلوکوکوس اورئوس است. در سال‌های اخیر، CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) در مواردی که از دیسک دیفیوژن برای شناسایی ایزوله‌های مقاوم به متی‌سیلین استفاده می‌شود، دیسک سفوکسیتین را توصیه کرده است. هدف از این مطالعه، ارزیابی روش دیسک دیفیوژن با استفاده از دیسک سفوکسیتین و مقایسه آن با روش PCR برای شناسایی ژن *mecA* بوده است.

مواد و روش‌ها: برای تأیید هویت ایزوله‌های جدا شده از پنج بیمارستان منتخب در شهر تهران، تست‌های متداول بیوشیمیایی به همراه PCR ژن *nuc* (که برای این باکتری اختصاصی است) انجام شدند. برای شناسایی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، در روش دیسک دیفیوژن از دیسک سفوکسیتین ۳۰ میکروگرم طبق دستورالعمل CLSI استفاده شد؛ سپس روش PCR برای شناسایی ژن *mecA* به کار رفت.

نتایج: با آزمایش‌های فنوتیپی و PCR ژن *nuc*، هویت ۱۰۱ ایزوله با عنوان استافیلوکوکوس اورئوس تأیید شد. روش دیسک دیفیوژن نشان داد که تمامی ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ونکومايسين و لینزولید، حساس بودند و ۵۸ مورد از ایزوله‌ها نسبت به سفوکسیتین، مقاوم بودند که تمامی این ایزوله‌ها در روش PCR، ژن *mecA* را داشتند.

نتیجه‌گیری: بنابراین در آزمایشگاه‌هایی که روش‌های مولکولی، به عنوان روش‌های معمول (روتین) در تشخیص MRSA استفاده نمی‌شوند، به کارگیری روش سفوکسیتین دیسک دیفیوژن به عنوان روشی ساده و از لحاظ اقتصادی کم‌هزینه، می‌تواند جانشینی مطلوب برای شناسایی ایزوله‌های مقاوم به متی‌سیلین باشد.

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، سفوکسیتین، *mecA*، PCR.

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌ودوم-شماره ۱۱۴
دی ۱۳۹۳

دریافت: ۱۳۹۳/۰۸/۱۱
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۳/۰۹/۱۹
پذیرش: ۱۳۹۳/۰۹/۲۵

مقدمه

همچنین (Clinical and Laboratory Standards Institute) CLSI استفاده از سفوکسیتین را برای شناسایی ژن *mecA* توصیه کرده است (۸). هدف از این مطالعه، ارزیابی روش دیسک دیفیوژن با استفاده از دیسک سفوکسیتین برای شناسایی ایزوله‌های بالینی مقاوم به متی‌سیلین و مقایسه آن با روش مولکولی PCR است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌ها

در این مطالعه توصیفی- تجربی، تعداد ۱۰۱ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس از پنج بیمارستان منتخب شهر تهران و از نمونه‌های مختلف بالینی در بیماران بستری جدا شدند.

نمونه‌ها شامل زخم (۲۹ نمونه)، ادرار (۲۵ نمونه)، خلط (۱۴ نمونه)، خون (۱۱ نمونه)، آبسه (۶ نمونه)، CSF (۴ نمونه) و سایر نمونه‌ها از جمله مایع مفصل، مایع پلور و تراشه (۱۲ نمونه) بودند؛ سپس تأیید هویت ایزوله‌ها با آزمایش‌هایی مانند رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز، DNase، رشد روی محیط مانیتول سالت آگار و کواگولاز لام و در لوله انجام شد. برای نگهداری ایزوله‌ها از محیطی نگهدارنده، شامل TSB (Tryptic soy broth) (Merck, Germany) دارای ۲۰ درصد گلیسرول استفاده شد؛ سپس ایزوله‌ها شماره‌گذاری و در ۷۰- درجه سانتی‌گراد برای انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شدند.

استخراج DNA

استخراج DNA باکتری، طبق روش پرز-روت^۱ و همکارانش با کمی تغییر انجام شد (۹)؛ در این روش، چند کلنی از کشت ۲۴ ساعته باکتری به میکروتیوب حاوی ۲۰۰ میکرولیتر محیط TSB افزوده شدند و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه

استافیلوکوکوس اورئوس، باعث ایجاد طیفی گسترده از عفونت‌های بیمارستانی و بیماری‌ها از جمله اندوکاردیت، استئومیلیت، پنومونی، سندرم شوک سمی، مسمومیت غذایی، کورک و دمل می‌شود (۱). مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از عفونت با فاصله‌ای کوتاه پس از مصرف گزارش شده است. با مصرف پنی‌سیلین از سال ۱۹۵۰ با واسطه پلاسمیدهای تولیدکننده بتالاکتاماز در ایزوله‌های بالینی، مقاومت به آن ایجاد شد. در ۱۹۵۹، متی‌سیلین به‌عنوان یک پنی‌سیلین نیمه‌صناعی معرفی شد؛ اما در سال ۱۹۶۰، ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین شناسایی شدند. شیوع (Methicillin Resistant Staphylococcus aureus; MRSA) در ابتدا در بیمارستان‌های اروپا گزارش شد، ولی به سرعت، کلون‌های MRSA در جهان پخش شدند (۲ و ۱).

مقاومت به متی‌سیلین توسط یک قطعه کروموزومی با عنوان *scmec* (staphylococcal cassette chromosome *mec*) که حاوی ژن *mecA* است، ایجاد می‌شود؛ این ژن، پروتئینی به نام PBP2a (penicillin binding protein 2a) را کد می‌کند که تمایل کمی برای اتصال به داروهای بتالاکتام دارد (۳). سویه‌های MRSA، تهدیدی جدی در عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شوند و بررسی‌ها مدت طولانی‌تر بستری بیماران را که عفونت با MRSA دارند، نسبت به بیماران مبتلا به MSSA (Methicillin Sensitive Staphylococcus aureus) در بیمارستان‌ها نشان داده‌اند که این امر، موجب صرف هزینه‌های درمانی بیشتر و همچنین پیشرفت عفونت و میزان مرگ‌ومیر بیشتر ناشی از این سویه‌ها نسبت به سویه‌های MSSA می‌شود؛ در نتیجه، تشخیص به موقع MRSA، از انتشار این سویه‌ها در بیمارستان‌ها جلوگیری می‌کند (۴ و ۵).

در سال‌های اخیر، استفاده از سفوکسیتین که یک القاگر قوی ژن *mecA* است، به‌عنوان شاخص (مارکر) شناسایی ژن *mecA* گزارش شده است (۶ و ۷).

^۱ - Prez Rot

استفاده از پرایمرهای در جدول ۱ انجام شد. روش PCR با ۲۵ میکرولیتر مخلوط شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰x، ۱ mM dNTP، ۵ mM MgCl₂، ۲۵ پیکومول از هر پرایمر، ۱/۵ U از آنزیم Taq پلیمرز و ۵ میکرولیتر DNA الگو انجام شد.

قرار گرفتند. پس از انجام ساترفیوژ در دور ۱۲۰۰۰، محلول رویی جدا شده به عنوان الگو در آزمایش PCR به کار رفت.

PCR برای شناسایی ژن nuc

پس از انجام آزمون‌های بیوشیمیایی تکثیر ژن nuc با

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای مورد مطالعه

ژن	توالی پرایمر (5'-3')	دما	اندازه محصول (bp)	منبع
<i>nuc</i>	5'-CTGGCATATGTATGGCAATTGTT-3' 5'-TATTGACCTGAATCAGCGTTGTCT-3'	۵۵°C	۶۱۳	(۱۰)
<i>mecA</i>	5'-GATGAAATGACTGAACGTCCGATAA-3' 5'-CCAATTCCACATTGTTTCGGTCTAA-3'	۵۸°C	۳۱۰	(۱۱)

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی

برای تمامی ایزوله‌ها، آزمایش انتشار دیسک با استفاده از دیسک‌های تهیه شده از شرکت (MAST, UK) که شامل لینزولید (۳۰ Linezolid) و ونکومایسین (۳۰ Vancomycin میکروگرم) و سفوکسیتین (۳۰ Cefoxitin میکروگرم) در محیط مولر هینتون آگار (Merck, Germany) انجام شد؛ در این روش از کشت ۲۴ ساعته باکتری، سوسپانسیونی معادل نیم‌مک‌فارلند در سرم فیزیولوژی استریل تهیه و کشت چمنی باکتری انجام شد؛ سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی روی آن قرار گرفتند و پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون شدند. قطر هاله عدم رشد هر دیسک با توجه به معیارهای CLSI، اندازه‌گیری و تفسیر شد (۸). استافیلوکوکوس اورئوس ATCC25923 به عنوان کنترل در این آزمایش‌ها استفاده شد.

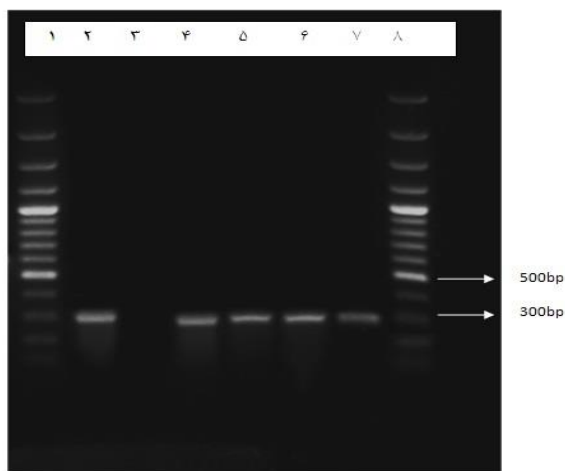
PCR برای شناسایی ژن mecA

شناسایی ژن mecA با استفاده از پرایمرهای

اختصاصی که توالی آنها و طول قطعه تکثیر یافته آن در جدول ۱ نشان داده شده است، برای تمامی ایزوله‌ها انجام شد. PCR با ۲۵ میکرولیتر مخلوط، شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰x، ۰/۴ میکرولیتر dNTP، ۰/۸ میکرولیتر ۲ MgCl₂، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر، ۰/۴ میکرولیتر از آنزیم Taq پلیمرز و ۵ میکرولیتر DNA الگو استفاده شد که با آب مقطر به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر رسید.

شناسایی محصول PCR

پس از اتمام واکنش، ۱۰ میکرولیتر از مخلوط PCR روی ژل آگارز ۱ درصد با استفاده از بافر ۰.۵ x TBE، مورد الکتروفورز قرار گرفت و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بر مایند، ایجاد باند توسط دستگاه ژل داگومنتیشن مورد مطالعه قرار گرفت. اندازه محصول PCR با استفاده از 100 bp DNA ladder (Fermentas, Germany) مشخص شد. پرایمرهای مورد استفاده از شرکت Bio neer کره



تصویر ۲. آنالیز الکتروفوریتیک محصول PCR برای ژن *mecA* (۸۱. نشانگر؛ ۲) کنترل مثبت (۳۱۰ جفت باز؛ ۳) کنترل منفی. (۷، ۶، ۵، ۴) نمونه‌های مثبت بالینی

حساسیت و اختصاصیت روش‌های استفاده از دیسک سفوکسی‌تین و PCR برای شناسایی MRSA در این مطالعه، در جدول ۲ نشان داده شده است. از میان ۵۸ ایزوله‌ای که در روش PCR دارای ژن *mecA* بودند، در روش سفوکسی‌تین دیسک دیفیوژن، ۴۲ ایزوله فاقد قطر هاله عدم رشد و ۱۶ ایزوله دارای قطر هاله عدم رشد میان ۱۲ تا ۱۸ میلی‌متر بودند. ارتباطی معنی‌دار میان حضور ایزوله‌های مقاوم به متی‌سیلین در نمونه‌های مختلف بالینی، سن و جنس بیماران مشاهده نشد ($p > 0.05$).

جدول ۲. مقایسه روش سفوکسی‌تین دیسک دیفیوژن

و PCR برای شناسایی ایزوله‌های MRSA

اختصاصیت (%)	حساسیت (%)	MRSA (تعداد)	روش
۱۰۰	۱۰۰	۵۸	سفوکسی‌تین دیسک دیفیوژن
۱۰۰	۱۰۰	۵۸	PCR برای شناسایی ژن <i>mecA</i>

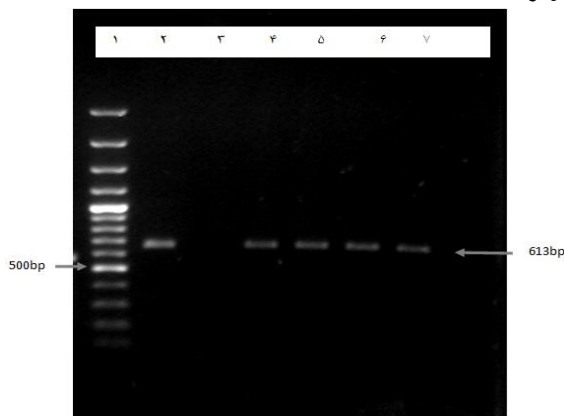
جنوبی تهیه و بقیه مواد به کاررفته در PCR از شرکت سیناژن ایران خریداری شده بودند.

تجزیه و تحلیل آماری

پس از گردآوری داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS، Excel و با آزمون کای دو (X²) به ازای $p < 0/05$ تحلیل آماری انجام شد.

نتایج

با آزمایش‌های تأییدی فنوتیپی (رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، رشد روی محیط مانتیول سالت آگار و کواگولاز روی لام و لوله) و PCR ژن *nuc*، هویت ۱۰۱ ایزوله به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس تأیید شد (تصویر ۱).



تصویر ۱. آنالیز الکتروفوریتیک محصول PCR برای ژن *nuc* (۱. نشانگر؛ ۲) کنترل مثبت (۶۱۳ جفت باز؛ ۳) کنترل منفی. (۷، ۵، ۶، ۴) نمونه‌های مثبت بالینی

محدوده سنی بیماران در طول مدت مطالعه ۱ تا ۸۵ سال با میانگین $20/2 \pm 44/2$ سال بود. با روش دیسک دیفیوژن، تمامی ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های لینزولید و ونکومایسین، حساس بودند. (۵۷/۴ درصد) ۵۸ ایزوله نسبت به سفوکسی‌تین، مقاوم بودند که MRSA در نظر گرفته شدند. تمامی ایزوله‌ها از لحاظ ژن *mecA* بررسی شدند که هیچ‌یک از ایزوله‌های حساس به متی‌سیلین، این ژن را نداشتند. تمامی ۵۸ ایزوله‌ای که در روش دیسک دیفیوژن نسبت به سفوکسی‌تین، مقاوم بودند، در روش ژنتیکی، دارای ژن *mecA* بودند (تصویر ۲).

بحث

تأیید نتایج مطالعه اخیر ما هستند. امروزه روش‌هایی متعدد برای شناسایی MRSA در سراسر جهان استفاده می‌شوند. تعیین ژن *mecA* توسط روش PCR به‌عنوان روش استاندارد طلایی در نظر گرفته می‌شود که به‌طور معمول (روتین) در بیمارستان‌ها در دسترس نیست و هزینه‌ای بالا دارد؛ با توجه به نتایج این مطالعه در مواردی که روش‌های مولکولی برای تشخیص MRSA در دسترس نیستند، می‌توان از روش فنوتیپی سفوکسیتین دیسک دیفیوژن که روشی کم‌هزینه، آسان و قابل اجرا بوده در همه مراکز تشخیصی برای شناسایی MRSA استفاده کرد. مطالعات اپیدمیولوژیک با استفاده از روش‌های تایپینگ (Typing) برای شناسایی کلون‌های مسئول لازم است. با توجه به اینکه تمامی ایزوله‌های مورد بررسی در این مطالعه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ونکومايسين و لینزولید، حساس بودند، می‌توان کارایی این آنتی‌بیوتیک‌ها را در درمان عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس، مؤثر دانست.

سپاس و قدردانی

این مقاله، حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد است که با حمایت معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد انجام گرفته است.

منابع

1. Shopsis Bo, Kreiswirth BN. Molecular epidemiology of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Disease*. 2001; 7(2): 323-26.
2. Stewart GT, Holt RJ. Evolution of natural resistance to the newer penicillin. *British Medical Journal*. 1963; 1(5326): 308-11.
3. Lim D, Styrindka NC. Structure basis for the beta lactam resistance of PBP 2a from MRSA. *Natural structure Biology*. 2002; 9(11): 870-76.
4. Chang FY, Macdonald BB, Peacock JE, Musher DM, Triplett P, Mayotte JM, et al. A prospective multicenter study of staphylococcus aureus bacteremia: incidence of endocarditis, risk factors for mortality, and clinical

یکی از اقدام‌های مهم در پیشگیری از گسترش عفونت‌ها توسط استافیلوکوکوس اورئوس، شناسایی و درمان به‌موقع عفونت‌های ناشی از MRSA است. با توجه به اینکه میزان مرگ‌ومیر ناشی از عفونت‌های بیمارستانی با ایزوله‌های MRSA بالاست، درمان صحیح عفونت‌ها و تعیین و آگاهی از الگوی منطقه‌ای مقاومت در انتخاب داروی مناسب کمک می‌کند (۱۲). شناسایی ژن *mecA* با استفاده از روش PCR، شیوه استاندارد طلایی برای تأیید MRSA محسوب می‌شود (۱۳). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که روش دیسک دیفیوژن با استفاده از دیسک سفوکسیتین نسبت به دیگر روش‌های فنوتیپی، مانند استفاده از دیسک اکزاسیلین ارجحیت دارد (۱۴) و امروزه، روشی توصیه شده توسط CLSI است (۸). جان و همکاران در سال ۲۰۰۹ با بررسی ۱۳۹ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس نشان دادند که حساسیت و اختصاصیت روش استفاده از دیسک سفوکسیتین به ترتیب، برابر ۱۰۰ درصد و ۱۰۰ درصد بود (۱۵)؛ در مطالعه‌ای دیگر که آناد و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام دادند، تمامی ۳۲ ایزوله‌ای که در روش دیسک دیفیوژن نسبت به سفوکسی‌تین مقاوم بودند، در روش PCR نیز، ژن *mecA* داشتند (۱۶)؛ همچنین ماتوس و همکاران در سال ۲۰۱۰ در مطالعه خود نشان دادند که حساسیت و اختصاصیت روش استفاده از دیسک سفوکسی‌تین برای شناسایی MRSA، به ترتیب، برابر ۱۰۰ درصد و ۱۰۰ درصد بود (۱۷) که نتایج این مطالعات در

5. Gastmeier P, Sohr D, Geffers C, Behnke M, Daschner F, Ruden H. Mortality risk factors with nosocomial staphylococcus aureus infections in intensive care units: results from the German Nosocomial Infection Surveillance System (KISS). *Infection*. 2005; 33(2):50-55.
6. Swenson JM, Lonsway D, McAllister S, Thompson A, Using Cefoxitin Disk Diffusion (DD) in a Collection of *Staphylococcus aureus* Expressing Borderline oxacillin MIC. *Diagnostic Microbiology Infection Disease*. 2007; 58:33-39.
7. Swenson JM, Tenover FC; the Cefoxitin Disk Study Group Results of disk diffusion testing with cefoxitin correlate

- with presence of *mecA* in *Staphylococcus* spp. Journal Clinical Microbiology. 2005; 43:3818-23.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty two informational supplement (M100-S22). Wayne, USA; 2012.
 9. Perez-Roth E, Claverie-Martin F, Villar J, Mendez-Alvarez S. Multiplex PCR for simultaneous identification of *Staphylococcus aureus* and detection of methicillin and mupirocin resistance. Journal Clinical Microbiology. 2001, 39(11): 4037-41.
 10. Blackburn p.s. The variation in the cell count of cow's milk throughout lactation and from one lactation to the next. Journal Dairy Research. 1966; 33: 193-98.
 11. Zhang K, Sparling J, Chow BL, Elsayed S, Hussain Z, Church DL, et al. New quadriplex PCR assay for detection of methicillin and mupirocin resistance and simultaneous discrimination of *Staphylococcus aureus* from coagulase negative staphylococci. Journal Clinical Microbiology. 2004; 42(11): 4947-955.
 12. Chambers HF. Methicillin resistance in *staphylococci*: molecular and biochemical basis and clinical implications. Clinical Microbiology Reviews. 1997; 10(4):781-791.
 13. Skov R, Smyth R, Larsen AR, Bolmstrom A, Karlsson A, Mills K, et al. Phenotypic detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* by disk diffusion testing and on Mueller-Hinton agar. Journal Clinical Microbiology. 2006; 44:4395-99.
 14. Skov R, Smyth R, Clausen M, Larsen AR, Frimodt-Moller N, Olsson-Liljequist B, et al. Evaluation of a cefoxitin 30 µg disc on Iso-Sensitest agar for detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2003; 52:204-07.
 15. John MA, Burden J, Stuart JI, Reyes RC, Lannigan R, Milburn S, Diagre D, Wilson B, Hussain Z. Comparison of three phenotypic techniques for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus* spp. reveals a species-dependent performance. Journal of Antimicrob Chemother. 2009; 63:493-96.
 16. 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 Journal Medical Microbiology. 2009; 27:27-29.
 17. Matos PD, Schuenck RP, Cavalcante FS, Caboclo RM, Santos KR. Accuracy of phenotypic methicillin susceptibility methods in the detection of *Staphylococcus aureus* isolates carrying different SCC *mec* types. Journal of Oswaldo Cruz. 2010; 105:931-34.

Daneshvar
Medicine

*Scientific-Research
Journal of Shahed
University
22nd Year, No.114
December 2014,
January 2015*

Received: 02/11/2014

Last revised: 10/12/2014

Accepted: 16/12/2014

Comparison of cefoxitin disk diffusion and PCR for mecA gene methods for detection of methicillin resistant Staphylococcus aureus

Saresadat Hoseini¹, Mohammad Niakan^{1*}, Hoorieh Sadari¹, Mohammad Emaneini²

1. Department of Microbiology, Medicine Faculty, Shahed University, Tehran, Iran
2. Department of Microbiology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

* E-mail: niakan@shahed.ac.ir

Abstract

Background and Objective: Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) is one of the most common microorganisms that is recovered from clinical bacterial isolates. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) recommends usage of cefoxitin when using the disk diffusion method to determine resistance against methicillin for S. aureus. The aim of our study was to evaluate the efficacy of cefoxitin disk diffusion test to detect MRSA and compare it with PCR methods for detection of mecA gene.

Materials and Methods: S. aureus was isolated from patients in five selected hospitals of Tehran province and identified by biochemical conventional methods and PCR for nuc gene (specific for this bacterium). Cefoxitin disc diffusion test was performed using 30 µg disc according to recommendations of CLSI. PCR for amplification of the mecA gene was performed.

Results: With phenotypic methods and PCR for nuc gene, identification of 101 isolates was confirmed as S. aureus. Disk diffusion method showed that all isolates were susceptible to vancomycin and linezolid antibiotics and 58 isolates were found to be methicillin resistant by cefoxitin disc diffusion. For these 58 isolates, mecA gene was positive.

Conclusion: In the absence of availability of molecular biology techniques, the cefoxitin disc can be an alternative to PCR for detection of MRSA as a simple and economically low cost method.

Key words: Methicillin-resistant Staphylococcus aureus, Cefoxitin, mec A, PCR