

مقایسه‌ی روش‌های دیسک دیفیوژن و E-Test در بررسی مقاومت به متی‌سیلین در استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس‌های جدا شده از نمونه‌های بالینی

دکتر ابتهاج پیشوا^۱، دکتر سید اصغر هوایی^۱، فیروز ارسلانی^۲

چکیده

مقدمه: در سال‌های اخیر مقاومت آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس نسبت به متی‌سیلین افزایش قابل توجهی یافته است. بنابراین بررسی مقاومت به متی‌سیلین در این باکتری در تعیین الگوی درمانی صحیح، تعیین کننده است. هدف از این مطالعه مقایسه‌ی روش‌های دیسک دیفیوژن و E-Test در بررسی مقاومت به متی‌سیلین در استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس‌های جدا شده از نمونه‌های بالینی می‌باشد.

روش‌ها: بر روی ۱۴۶ نمونه‌ی استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس تعیین مقاومت به متی‌سیلین با استفاده از روش‌های E-Test و دیسک دیفیوژن انجام شد و این دو روش مورد مقایسه قرار گرفتند.

یافته‌ها: ۱۴۶ نمونه از استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس با استفاده از روش‌های E-Test و دیسک دیفیوژن از لحاظ مقاومت به متی‌سیلین مورد بررسی قرار گرفت که در روش E-Test میزان مقاومت ۷۰/۵۴ درصد و در روش دیسک دیفیوژن ۶۱/۶۴ درصد تعیین شد و حساسیت و اختصاصیت آن‌ها به ترتیب در E-Test، ۹۵/۳ و ۹۴/۷ درصد و در دیسک دیفیوژن به ترتیب ۸۶/۵ و ۸۰/۹ درصد بیان شد.

نتیجه‌گیری: با مقایسه‌ی حساسیت و اختصاصیت روش‌های E-Test و دیسک دیفیوژن مشخص شد که روش E-Test از حساسیت و اختصاصیت بالاتری برخوردار است و روشی سریع‌تر، دقیق‌تر و قابل اطمینان‌تر برای تعیین مقاومت به متی‌سیلین در استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس می‌باشد.

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، متی‌سیلین، E-Test، دیسک دیفیوژن.

مقدمه

عفونت‌ها اغلب در رابطه با به کارگیری تجهیزات پزشکی مثل کاتترهای داخل وریدی و ادراری و شانت‌های مفصلی مطرح می‌باشد. باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس توسط این وسایل باعث ایجاد باکتری، استئومیلیت و پری‌تونیت می‌شود (۳-۴). استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در بیماران ایمونوساپرس و بیمارانی که به مدت طولانی در بیمارستان‌ها بستری می‌شوند بیماری‌زایی بیشتری دارد (۵) و در بین استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی ۹۲-۷۴ درصد موارد از عفونت‌های خون در بیمارستان را به

استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی به عنوان پاتوژن‌های مهم در عفونت‌های بیمارستانی مطرح هستند. در حدود ۸۰-۹۰ درصد این باکتری‌ها در رابطه با عفونت‌های بیمارستانی، به متی‌سیلین مقاومت دارند (۱). استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باکتری گرم مثبت و کوآگولاز منفی است که به طور اولیه، فلور نرمال پوست سالم انسان و به عنوان باکتری کامنسال می‌باشد. در سال‌های اخیر این باکتری به عنوان عامل شایع عفونت‌های بیمارستانی مطرح شده است (۲). این

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

^۱ دانشیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

^۲ دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

بیشتر از روش‌های فنوتیپی مثل دیسک دیفیوژن استفاده می‌شود که عوامل مختلف محیطی بر رشد باکتری‌ها و نتایج آن مؤثر هستند (۲۰). با وجود این که نتایج چندین مطالعه نشان داده است که روش استاندارد دیسک دیفیوژن حساسیتی در حد شناسایی ژن *mecA* دارد (۲۱-۲۳)، اما خطاهایی نیز در این روش‌ها گزارش شده است (۲۴-۲۶). از این رو یک روش سریع، حساس و با دقت که تحت شرایط محیط کشت نباشد ضروری به نظر می‌رسد. در این مطالعه از روش‌های فنوتیپی *E-test* و دیسک دیفیوژن برای شناسایی مقاومت به متی‌سیلین در باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس استفاده شده است. روش *E-test* روشی برگرفته از *Agar dilution* و *Disk diffusion* می‌باشد. این روش در مقایسه با روش‌های فنوتیپی دیگر دارای مزایای بیشتری است و به زمان کمتری نیاز دارد (۲۷).

با توجه به شیوع فراوان استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در عفونت‌های مختلف نوزادان، عفونت‌های ادراری و اتصال آن به وسایل و تجهیزات پزشکی که منشأ عفونت در بیماران مختلف می‌شود و به لحاظ افزایش قابل توجه مقاومت به متی‌سیلین در بین بیماران بر آن شدید که میزان این مقاومت را با مقایسه‌ی روش‌های فنوتیپی دیسک دیفیوژن و *E-Test* تعیین نماییم.

روش‌ها

نمونه‌گیری در سال ۱۳۸۸ به مدت یک سال از بخش‌های مختلف بیمارستان الزهرا (س) اصفهان انجام شد و ۱۴۶ نمونه جمع‌آوری گردید. ایزوله‌های جمع‌آوری شده توسط روش‌های مختلفی از جمله

خود اختصاص می‌دهد (۶). بر اساس مطالعات انجام شده در کشورهای غربی، بیش از ۷۰ درصد از ایزوله‌های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به متی‌سیلین یا آگزا سیلین مقاومت دارند (۷). این باکتری در تولید بیوفیلم دخالت دارد و به راحتی به کاتترها و شانت‌ها می‌چسبد و به واسطه‌ی این مکانیسم خود را از اثرات عوامل ضد میکروبی حفظ می‌کند (۸-۱۱).

ترکیب اصلی بیوفیلم، پلی‌ساکارید سلولی است که باعث محافظت باکتری از سیستم ایمنی بدن می‌شود و همچنین باعث کلونیزاسیون باکتری بر روی سطوح وسایل پزشکی مثل کاتترهای داخل وریدی و شانت‌های مفصلی و مقاومت به شرایط خارجی می‌شود (۱۲). ثابت شده است که باکتری‌هایی که در داخل ساختار بیوفیلم قرار می‌گیرند می‌توانند اطلاعات ژنتیکی مثل ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی را بین خود به آسانی مبادله کنند (۱۳). مقاومت به متی‌سیلین به طور شاخص در ایزوله‌هایی که بیوفیلم تولید می‌کنند بیشتر از ایزوله‌هایی است که بیوفیلم تولید نمی‌کنند (۱۴). مکانیسم مقاومت به متی‌سیلین مانند استافیلوکوکوس اورئوس به وسیله‌ی ژن *mecA* که کدکننده‌ی *PBPs* (Penicillin binding proteins) می‌باشد و تمایل کمی برای اتصال به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام دارد، صورت می‌گیرد (۱۵-۱۶). این ژن روی کروموزوم قرار دارد که توسط دو ژن دیگر به نام‌های *mecR1* و *mecR2* تنظیم می‌شود (۱۷). نگرانی در تشخیص مقاومت به متی‌سیلین این است که تست‌های تعیین حساسیت قادر به شناسایی صحیح مقاومت به متی‌سیلین نباشند (۱۸).

شناسایی مقاومت به متی‌سیلین شامل روش‌های فنوتیپی و ژنوتیپی است (۱۹). امروزه در آزمایشگاه‌ها



شکل ۱. نتیجه منفی باکتری‌های مورد آزمایش (حساس به متی‌سیلین) در روش E-Test



شکل ۲. نتیجه مثبت باکتری‌های مورد آزمایش (مقاوم به متی‌سیلین) در روش E-Test

دیفیوژن که روش‌های آسان و دقیقی هستند برای تعیین MIC آنتی‌بیوتیک آگراسیلین استفاده شد و این دو روش فنوتیپی از نظر ویژگی و حساسیت مورد مقایسه قرار گرفتند (جدول ۱). درصد حساسیت و ویژگی در روش دیسک دیفیوژن به ترتیب ۸۶/۵ و ۸۰/۹ درصد و در روش E-Test به ترتیب ۹۵/۳ و ۹۴/۷ درصد تعیین شد. بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که روش دیسک دیفیوژن در مقایسه با روش E-Test حساسیت و اختصاصیت پایین‌تری دارد.

مقاومت این باکتری به داروهای مختلف بر اساس جدول ۲ بیان شده است.

رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز، تست کوآگولاز لوله‌ای و لامی، تست DNase، حساسیت به نوویوسین، مقاومت به باسیتراسین، مقاومت به پلی‌میکسین B، تست هیدرولیز اوره، تست VP و کشت در محیط مانیتول سالت آگار شناسایی شدند.

برای انجام دیسک دیفیوژن از محیط مولر هیتون آگار استفاده شد. ابتدا از کلنی‌های ۱۸-۲۴ ساعته سوسپانسیون ۰/۵ مک فارلند تهیه کردیم و سوپ استریل را در داخل سوسپانسیون فرو بردیم و آن را به دیواره‌ی لوله فشار دادیم تا مایع اضافی آن گرفته شود و سپس به صورت کشت کامل آن را کشت دادیم. بعد از گذشت ۱۵ دقیقه دیسک‌ها را روی محیط با فاصله‌ی مناسب قرار دادیم (دیسک‌ها یک ساعت قبل از استفاده در دمای محیط قرار گرفتند) و برای کنترل کیفی دیسک‌ها از سویه‌ی ATCC 29213 استفاده کردیم.

در روش E-Test ابتدا محیط مولر هیتون آگار تهیه کردیم. سوسپانسیون با غلظت نیم مک فارلند تهیه کردیم و باکتری را کشت دادیم. بعد از کشت باکتری چند دقیقه صبر کردیم تا محیط مقداری خشک شود و بعد نوار را روی محیط قرار دادیم و با پنس آرام روی نوار فشار دادیم تا نوار به محیط بچسبد و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون میزان MIC مورد نظر را خواندیم. برای این کار آخرین نقطه از منطقه‌ی ممانعتی هلالی شکل که نوار را قطع می‌کند به عنوان MIC در نظر گرفته می‌شود. در اشکال ۱ و ۲ نمونه‌ی منفی و نمونه‌ی مثبت روش E-Test نشان داده شده است.

یافته‌ها

در این مطالعه، از روش‌های فنوتیپی E-Test و دیسک

جدول ۱. مقایسه‌ی درصد حساسیت و ویژگی روش‌های E-Test و دیسک دیفیوژن

ویژگی (درصد)	حساسیت (درصد)	باکتری‌های فاقد ژن mecA		باکتری‌های حاوی ژن mecA		روش‌های فنوتیپی
		مثبت کاذب	منفی واقعی	منفی کاذب	مثبت واقعی	
۹۴/۷	۹۵/۳	۰	۳۶	۷	۱۰۳	E-Test
۸۰/۹	۸۶/۵	۰	۳۶	۲۰	۹۰	Disk Diffusion

جدول ۲. توزیع فراوانی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مورد مطالعه بر حسب مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های موجود در روش آنتی‌بیوگرام

جمع	مقاومت آنتی‌بیوتیکی		نوع آنتی‌بیوتیک
	مقاوم	حساس	
	(درصد) تعداد	(درصد) تعداد	
۱۴۶	۷۹ (۵۴/۱۱)	۶۷ (۴۵/۸۹)	جنتا مایسین
۱۴۶(۱۰۰)	۵۱ (۳۴/۹۳)	۹۵ (۶۵/۰۷)	کلیندا مایسین
۱۴۶(۱۰۰)	۴۳(۲۹/۴۵)	۱۰۳ (۷۰/۵۵)	ریفامپسین
۱۴۶(۱۰۰)	۷۴ (۵۰/۶۸)	۷۲ (۴۹/۳۲)	سیپروفلوکسازین
۱۴۶(۱۰۰)	۹۰ (۶۱/۶۴)	۵۶(۳۸/۳۶)	اگراسیلین
۱۴۶(۱۰۰)	۴۷ (۳۲/۲۰)	۹۲ (۶۷/۸۰)	کوتریموکسازول
۱۴۶(۱۰۰)	۹۵ (۶۵/۰۶)	۵۱ (۳۴/۹۴)	تتراسایکلین
۱۴۶ (۱۰۰)	_____	۱۴۶(۱۰۰)	وانکو مایسین

بحث

حد شناسایی ژن mecA دارد (۳۱-۳۰، ۲۲) اما خط‌هایی نیز در این روش گزارش شده است (۳۳-۳۲، ۲۴، ۲۰). از این رو وجود یک روش سریع، حساس و با دقت که تحت شرایط محیط کشت نباشد ضروری به نظر می‌رسد. در این مطالعه از روش فنوتیپی E-Test که در مقایسه با سایر روش‌های فنوتیپی دارای مزایای بیشتری بود و به زمان کمتری نیاز دارد، در کنار روش دیسک دیفیوژن، استفاده شد. در مطالعه‌ی حاضر درصد فراوانی ژن mecA در روش دیسک دیفیوژن ۶۱/۶۴ درصد و در روش E-Test ۷۰/۵۴ درصد بود.

پیرامون حساسیت و اختصاصیت روش‌های مورد بحث مطالعاتی صورت گرفته است. Ferreira و همکاران مقاومت به متی‌سیلین را در ۱۳۲ ایزوله‌ی استافیلوکوکوک‌های کوآگولاز منفی به وسیله‌ی

مقاومت به متی‌سیلین مدت کوتاهی بعد از شروع این دارو برای استفاده در درمان عفونت‌های استافیلوکوک‌ها در سال ۱۹۶۱ گزارش گردید و سپس به تمام بیمارستان‌ها در سراسر دنیا انتشار یافت (۲۸). نگرانی در تشخیص مقاومت به متی‌سیلین این است که تست‌های حساسیت موجود قادر به شناسایی صحیح این مقاومت نباشند (۲۹). شناسایی مقاومت به متی‌سیلین شامل روش‌های فنوتیپی و ژنوتیپی است (۱۹). امروزه در آزمایشگاه‌ها بیشتر از روش‌های فنوتیپی مانند دیسک دیفیوژن استفاده می‌شود که عوامل مختلف محیطی بر رشد باکتری‌ها و نتایج آن مؤثر می‌باشند (۲۰).

با وجود این که نتایج چندین مطالعه نشان داده است که روش استاندارد دیسک دیفیوژن حساسیتی در

از حساسیت و اختصاصیت پایین‌تری نسبت به E-Test برخوردار است. با توجه به جدول ۱، در تست‌های فنوتیپی مثبت و منفی کاذب مشاهده شد که این نتایج کاذب در تست دیسک دیفیوژن محسوس‌تر بود. Gerberding و همکاران (۳۵) و Chambers (۱۷) علت نتایج منفی کاذب را ناشی از هتروژن بودن ژن *mecA* بیان کردند. Chambers در همان سال نتایج مثبت کاذب را ناشی از دو عامل تولید بیش از اندازه‌ی پنی‌سیلیناز و تغییرات زیاد پروتئین‌های متصل‌شونده به پنی‌سیلین ذکر کرد (۱۷).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه از دو روش E-Test و دیسک دیفیوژن برای بررسی مقاومت به متی‌سیلین در استافیلوکوک اپیدرمیدیس‌های ایزوله شده استفاده نمودیم و مشاهده کردیم که روش E-Test یک روش بسیار ساده، سریع و دقیق است و از حساسیت بالاتری برخوردار است.

روش‌های دیسک دیفیوژن، E-Test و PCR مورد بررسی قرار داد و حساسیت برای روش دیسک دیفیوژن را ۹۴/۲ درصد و اختصاصیت آن را ۹۱/۸ درصد، حساسیت E-Test را ۱۰۰ درصد و اختصاصیت آن را ۷۱/۴ درصد گزارش کردند (۲۴). در مطالعه‌ی دیگری که توسط Tveten و همکاران انجام شد حساسیت و اختصاصیت E-Test به ترتیب ۱۰۰ و ۹۵/۴ درصد گزارش گردید و ثابت نمود که این تست فنوتیپی یک تست خوب و مناسب برای تعیین مقاومت در بین استافیلوکوک‌ها است (۳۴). در مطالعه‌ی ما، از روش‌های فنوتیپی دیسک دیفیوژن و E-Test استفاده شد که در آن حساسیت و اختصاصیت E-Test به ترتیب ۹۵/۳ و ۹۴/۷ درصد و دیسک دیفیوژن به ترتیب ۸۶/۵ و ۸۰/۹ درصد بود.

با توجه به نتایج به دست آمده از تحقیقات انجام شده در کشورهای دیگر و نتیجه‌ی حاصله از مطالعه‌ی حاضر، می‌توان گفت که تست فنوتیپی دیسک دیفیوژن

References

- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Types of nosocomial infections. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 12th ed. Philadelphia: Mosby; 2002. p. 68-9.
- Lim SM, Webb SA. Nosocomial bacterial infections in Intensive Care Units. I: Organisms and mechanisms of antibiotic resistance. *Anaesthesia* 2005; 60(9): 887-902.
- von EC, Jansen B, Kohnen W, Becker K. Infections associated with medical devices: pathogenesis, management and prophylaxis. *Drugs* 2005; 65(2): 179-214.
- Barrau K, Boulamery A, Imbert G, Casalta JP, Habib G, Messana T, et al. Causative organisms of infective endocarditis according to host status. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10(4): 302-8.
- Ziebuhr W. Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis: emerging pathogens in nosocomial infections. *Contrib Microbiol* 2001; 8: 102-7.
- Garrett DO, Jochimsen E, Murfitt K, Hill B, McAllister S, Nelson P, et al. The emergence of decreased susceptibility to vancomycin in Staphylococcus epidermidis. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20(3): 167-70.
- Dickinson TM, Archer GL. Phenotypic expression of oxacillin resistance in Staphylococcus epidermidis: roles of *mecA* transcriptional regulation and resistant-subpopulation selection. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(6): 1616-23.
- Hebert GA. Hemolysins and other characteristics that help differentiate and biotype Staphylococcus lugdunensis and Staphylococcus schleiferi. *J Clin Microbiol* 1990; 28(11): 2425-31.
- Hebert GA, Crowder CG, Hancock GA, Jarvis WR, Thornsberry C. Characteristics of coagulase-negative staphylococci that help differentiate these species and other members of the family Micrococcaceae. *J Clin Microbiol* 1988; 26(10): 1939-49.
- Kloos WE, Bannerman TL. Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev* 1994; 7(1): 117-40.

11. Mack D, Davies AP, Harris LG, Rohde H, Horstkotte MA, Knobloch JK. Microbial interactions in *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Anal Bioanal Chem* 2007; 387(2): 399-408.
12. Vuong C, Voyich JM, Fischer ER, Braughton KR, Whitney AR, DeLeo FR, et al. Polysaccharide intercellular adhesin (PIA) protects *Staphylococcus epidermidis* against major components of the human innate immune system. *Cell Microbiol* 2004; 6(3): 269-75.
13. Arciola CR, Campoccia D, Gamberini S, Donati ME, Pirini V, Visai L, et al. Antibiotic resistance in exopolysaccharide-forming *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates from orthopaedic implant infections. *Biomaterials* 2005; 26(33): 6530-5.
14. Koksall F, Yasar H, Samasti M. Antibiotic resistance patterns of coagulase-negative staphylococcus strains isolated from blood cultures of septicemic patients in Turkey. *Microbiol Res* 2009; 164(4): 404-10.
15. Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, Ito T. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol* 2001; 9(10): 486-93.
16. Hiramatsu K, Katayama Y, Yuzawa H, Ito T. Molecular genetics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol* 2002; 292(2): 67-74.
17. Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10(4): 781-91.
18. York MK, Gibbs L, Chehab F, Brooks GF. Comparison of PCR detection of *mecA* with standard susceptibility testing methods to determine methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol* 1996; 34(2): 249-53.
19. Martins A, Cunha ML. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci: epidemiological and molecular aspects. *Microbiol Immunol* 2007; 51(9): 787-95.
20. Mirsalehian A, Jabalameli F, Alizadeh S. Comparison of disk agar diffusion susceptibility testing and PCR in detection of methicillin resistance *Staphylococcus aureus*. *Tehran Univ Med J* 2003; 61(6): 420-5.
21. Hedin G, Lofdahl S. Detecting methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*--disc diffusion, broth breakpoint or polymerase chain reaction? *APMIS* 1993; 101(4): 311-8.
22. Olsson-Liljequist B, Larsson P, Ringertz S, Lofdahl S. Use of a DNA hybridization method to verify results of screening for methicillin resistance in staphylococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993; 12(7): 527-33.
23. McDonald CL, Maher WE, Fass RJ. Revised interpretation of oxacillin MICs for *Staphylococcus epidermidis* based on *mecA* detection. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39(4): 982-4.
24. Ferreira RB, Iorio NL, Malvar KL, Nunes AP, Fonseca LS, Bastos CC, et al. Coagulase-negative staphylococci: comparison of phenotypic and genotypic oxacillin susceptibility tests and evaluation of the agar screening test by using different concentrations of oxacillin. *J Clin Microbiol* 2003; 41(8): 3609-14.
25. Hussain Z, Stoakes L, Lannigan R, Longo S, Nancekivell B. Evaluation of screening and commercial methods for detection of methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol* 1998; 36(1): 273-4.
26. Perazzi B, Fermepin MR, Malimovka A, Garcia SD, Orgambide M, Vay CA, et al. Accuracy of cefoxitin disk testing for characterization of oxacillin resistance mediated by penicillin-binding protein 2a in coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol* 2006; 44(10): 3634-9.
27. Rosser SJ, Alfa MJ, Hoban S, Kennedy J, Harding GK. E test versus agar dilution for antimicrobial susceptibility testing of viridans group streptococci. *J Clin Microbiol* 1999; 37(1): 26-30.
28. De GM, Pacifico L, Tufi D, Panero A, Boccia A, Chiesa C. Phenotypic detection of nosocomial *mecA*-positive coagulase-negative staphylococci from neonates. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44(3): 351-8.
29. York MK, Gibbs L, Chehab F, Brooks GF. Comparison of PCR detection of *mecA* with standard susceptibility testing methods to determine methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol* 1996; 34(2): 249-53.
30. Hedin G, Lofdahl S. Detecting methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*--disc diffusion, broth breakpoint or polymerase chain reaction? *APMIS* 1993; 101(4): 311-8.
31. McDonald CL, Maher WE, Fass RJ. Revised interpretation of oxacillin MICs for *Staphylococcus epidermidis* based on *mecA* detection. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39(4): 982-4.
32. Hussain Z, Stoakes L, Lannigan R, Longo S, Nancekivell B. Evaluation of screening and commercial methods for detection of methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol* 1998; 36(1): 273-4.
33. Perazzi B, Fermepin MR, Malimovka A, Garcia SD, Orgambide M, Vay CA, et al. Accuracy of cefoxitin disk testing for characterization of oxacillin resistance mediated by penicillin-

- binding protein 2a in coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol* 2006; 44(10): 3634-9.
34. Tveten Y, Jenkins A, Digranes A, Melby KK, Allum AG, Kristiansen BE. Comparison of PCR detection of *mecA* with agar dilution and Etest for oxacillin susceptibility testing in clinical isolates of coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10(5): 462-5.
35. Gerberding JL, Miick C, Liu HH, Chambers HF. Comparison of conventional susceptibility tests with direct detection of penicillin-binding protein 2a in borderline oxacillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35(12): 2574-9.

Comparing Disk Diffusion and E-Test Methods in Reviewing Methicillin-Resistance in Staphylococcus Epidermidis Isolated from Clinical Specimens

Ebtehaj Pishva PhD¹, Sayed Asghar Havaei PhD¹, Firooz Arsalani²

Abstract

Background: In recent years, resistance of Staphylococcus epidermidis to methicillin has significantly increase. Therefore, reviewing methicillin resistance is necessary and crucial in determining an appropriate therapeutic pattern. This study aimed to compare disk fusion and E-test methods in reviewing methicillin resistance in Staphylococcus epidermidis isolated from clinical specimens.

Methods: Determination of methicillin resistance was conducted through disk fusion and E-test methods on 146 samples of Staphylococcus epidermidis. The two methods were then compared.

Findings: The resistant rates of E-test and disk fusion were 70.54% and 61.64%, respectively. The sensitivity and specificity of E-test were 95.3% and 94.7%, respectively. The corresponding values for disk fusion were 86.5% and 80.9%.

Conclusion: Assessing the sensitivity and specificity of E-test and disk fusion methods showed that E-test had higher sensitivity and specificity. It is also a faster, more accurate, and more reliable method to determine methicillin resistance in Staphylococcus epidermidis.

Keywords: Staphylococcus epidermidis, Methicillin, E-test, Disk fusion

* This paper is derived from a medical thesis in Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

¹ Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

² Student of Medicine, School of Medicine And Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Firooz Arsalani, Email: arsalani.firooz@yahoo.com