دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال هفدهم، شماره ۱، صفحه ۴۱ - ۳۳ (فروردین و اردیبهشت ۹۳)

ISMJ 2014; 17(1):33-41

تیپ‌بندی مولکولی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس دارای مقاومت القایی و ساختمانی نسبت به کلیندامایسین جدا شده از ناقلین بینی

علیرضا ژاپونی‌نژاد [۱و۲]، محسن رضازاده [۱و۲]، حمید کاظمیان [۲]، نسیمه فردموسوی [۲]، احسان اله غزنوی‌راد [۲و۳*]

[۱] کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، ایران
[۲] گروه میکروب‌شناسی و ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، ایران
[۳] مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، ایران

(دریافت مقاله: ۹۱/۳/۸- پذیرش مقاله: ۹۱/۴/۱۱)

چکیده

زمینه: افزایش عفونت‌های ایجاد شده به‌وسیله سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و تغییر در الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، منجر به استفاده مجدد از آنتی‌بیوتیک‌های ماکرولید- لینکوزآمید و استرپتوگرامین B جهت درمان این عفونت‌ها شده است. با توجه به اینکه تاکنون در ایران مطالعه‌ای بر روی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس‌های اکتسابی از جامعه صورت نپذیرفته است، بنابراین این بررسی با هدف تیپ‌بندی مولکولی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس دارای مقاومت فنوتیپی نسبت به ماکرولید- لینکوزآمید و استرپتوگرامین B برگرفته شده از جامعه دانشجویان دانشگاه علوم پزشکی اراک می‌باشد.

مواد و روش‌ها: از ۵۶۸ نمونه مربوط به سواپ بینی گرفته شده از دانشجویان دانشگاه علوم پزشکی اراک، ۸۴ سویه استافیلوکوکوس اورئوس جدا گردید. تمامی نمونه‌ها با استفاده از روش‌های استاندارد و مرسوم جهت تشخیص اختصاصی استافیلوکوکوس اورئوس تعیین هویت گردیدند. آزمون دی (D test) جهت تعیین انواع فنوتایپ‌ها انجام پذیرفت، همچنین تیپ‌بندی مولکولی با روش spa typing صورت پذیرفت.

یافته‌ها: ۶ نمونه (۷ درصد) از ۸۴ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از جامعه دانشجویان، مقاوم به متی سیلین و ۷۸ نمونه (۹۳ درصد) حساس به متی‌سیلین بودند. از ۸۴ سویه استافیلوکوکوس اورئوس ۸ نمونه (۹/۵ درصد) دارای مقاومت ساختمانی با spa تایپ‌های t۱۹۴۴، t۰۸۴، t۳۲۰۴، t۰۱۲، t۵۵۹۸، t۳۰۴، t۷۰۱، t۶۶۰، ۲ نمونه (۲/۵ درصد) دارای مقاومت القایی و spa تایپ t۰۷۷ و t۹۰۲۴، ۲ نمونه (۲/۵ درصد) دارای فنوتایپ دی منفی و spa تایپ t۰۸۴ و t۱۱۴۹ و ۷۲ نمونه (۸۵/۵ درصد) دارای فنوتایپ حساس بودند. ضمناً ۲ سویه مقاوم به متسیلین کسب شده از جامعه دارای مقاومت ساختمانی و ۴ سویه دیگر دارای فنوتایپ حساس بودند.

نتیجه‌گیری: این بررسی نشان داد که مقاومت ساختمانی فراوانی بیشتری نسبت به مقاومت القایی در میان استافیلوکوکوس اورئوس‌های اکتسابی از جامعه دارد. همچنین با توجه به وجود مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین در استافیلوکوکوس اورئوس‌های اکتسابی از جامعه انجام آزمون دی (D test) جهت تشخیص این نوع مقاومت احساس می‌گردد. ضمناً سویه‌های دارای مقاومت القایی، ساختمانی و سویه‌هایی که آزمون D در آنها منفی بود، دارای تایپ‌های مولکولی متفاوتی هستند.

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، ناقلین بینی، آزمون D، مقاومت القایی کلیندامایسین، spa تایپ

* اراک، دانشگاه علوم پزشکی اراک، دانشکده پزشکی، گروه میکروب‌شناسی

E-mail: e.ghaznavirad@arakmu.ac.ir

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-08-16]

مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌های ماکرولید (اریترومایسین، آزیترومایسین، اسپیرامایسین)، لینکوزآمید (کلیندامایسین، لینکومایسین) و گروه B استرپتوگرامین‌ها[1] (مانند کوینوپریستین) گروهی از آنتی‌بیوتیک‌ها هستند که در مجموع MLSB [2]نامیده می‌شوند (۳-۱).

آن‌ها از نظر ساختاری متفاوت بوده ولی همگی دارای جایگاه اثر مشابهی می‌باشند و مانع سنتز پروتئین به‌وسیله اتصال به زیر واحد s50 ریبوزوم می‌گردند (۳-۱). MLSBها معمولاً در درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط استافیلوکوکوس‌ها به‌کار می‌روند (۴).

کلیندامایسین به‌علت داشتن فرم خوراکی، نفوذ بسیار خوب در پوست و ساختارهای آن، ارزان بودن و قابل تحمل بودن در درمان عفونت‌های پوستی و بافت‌های نرم ایجاد شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس‌ها کاربرد دارد (۱، ۳ و ۴). افزایش در مصرف این داروها باعث ایجاد مقاومت نسبت به آن‌ها در استافیلوکوکوس‌ها گشته است (۳ و ۵).

مقاومت نسبت به ماکرولیدها، لینکوزآمیدها و استرپتوگرامین B معمولاً در اثر تغییرات ریبوزومی است که به‌وسیله آنزیم متیلازی که به‌وسیله ژن‌های erm کد می‌گردد ایجاد می‌شود (۱ و ۳)، یا به‌وسیله پمپ‌های تراوشی که به‌وسیله ژن msr کد می‌گردند و با مصرف ATP باعث تراوش آنتی‌بیوتیک‌ها می‌گردند ویا به‌وسیله نوکلئوتیدیل ترانسفرازی است که به‌وسیله ژنlnuA کد می‌گردد و تنها باعث غیرفعال سازی لینکوزآمیدها می‌گردد، ایجاد می‌شود (۳-۱).

مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین در حدود سال ۱۹۶۰ شناخته شد (۶). در این نوع از مقاومت ژن erm یک mRNA غیرفعال تولید می‌کند که قادر به تولید متیلاز نمی‌باشد و فقط در حضور ماده القا کننده مانند ماکرولید فعال می‌شود و فنوتایپ القایی(iMLSB) را به‌وجود می‌آورد (۵ و ۷).

در مقاومت ساختمانی mRNA متیلاز به‌صورت فعال و پیوسته حتی در غیاب القا کننده تولید می‌شود و نیازی به ماده القا کننده نداشته و به‌صورت ساختمانی بیان می‌گردد. سویه‌هایی که این نوع مقاومت را از خود نشان می‌دهند به تمامی آنتی‌بیوتیک‌های MLSB مقاوم بوده و فنوتایپ ساختمانی (cMLSB) را به‌وجود می‌آورند (۳، ۴، ۶ و ۸).

مشکلی که در آزمایشگاه وجود دارد، عدم شناسایی مقاومت القایی (iMLSB) به‌وسیله آزمایش‌هایی است که به‌صورت معمول استفاده می‌شوند، در حالی‌که مقاومت ساختمانی (cMLSB) به‌راحتی مورد شناسایی قرار می‌گیرد (۳، ۶ و ۹). جهت تشخیص مقاومت القایی از آزمون D استفاده می‌شود که آزمونی ساده بر اساس دیسک دیفیوژن می‌باشد (۵، ۷، ۸ و ۱۰).

استافیلوکوکوس اورئوس‌هایی که به کلیندامایسین حساس بوده ولی به اریترومایسین مقاوم هستند، به‌وسیله این آزمون از نظر داشتن مقاومت القایی مورد بررسی قرار می‌گیرند. سویه‌هایی که فنوتیپی نسبت به کلیندامایسین حساس بوده ولی در آزمون دی مثبت می‌گردند، به‌عنوان مقاوم گزارش خواهند شد (۳، ۶ و ۱۱).

با توجه به اینکه بررسی‌هایی که تاکنون در ایران صورت پذیرفته بر روی استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از نمونه‌های بالینی بوده است (۳ و ۴) و تاکنون مطالعه‌ای جهت ارزیابی استافیلوکوکوس اورئوس‌های اکتسابی از جامعه از نظر مقاومت ساختمانی و القایی نسبت به کلیندامایسین و بررسی تیپ‌بندی مولکولی آن‌ها صورت نپذیرفته است، هدف

[1] Streptogramins
[2] Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-08-16]

از انجام این پژوهش، بررسی فنوتایپی مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین و تعیین تیپ‌بندی مولکولی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس دارای مقاومت القایی و ساختمانی کسب شده از جامعه دانشجویان دانشگاه علوم پزشکی اراک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه که به‌صورت توصیفی- مقطعی صورت پذیرفت، افراد شرکت کننده با توجه به تعاریف مرکز کنترل و پیشگیری بیماری‌ها (۱۵) جهت شناسایی ناقلی بینی استافیلوکوکوس اورئوس اکتسابی از جامعه انتخاب شدند. افرادی که سابقه عفونت با استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین را داشتند و یا سابقه بستری در بیمارستان یا مراکز نگهداری، دیالیز، جراحی یا استفاده از وسایل و ابزارهای تهاجمی پزشکی مانند سوند و کاتتر را در یکسال قبل از شرکت در مطالعه را داشتند، از مطالعه خارج گردیدند.

با توجه به تعاریف بالا ۵۶۸ نفر از دانشجویان دانشگاه علوم پزشکی اراک جهت شرکت در این مطالعه انتخاب شدند که از نمونه‌های سواپ بینی گرفته شده از این افراد، ۸۴ سویه استافیلوکوکوس اورئوس با به‌کارگیری روش‌های استاندارد بیوشیمیایی و مرسوم جهت تشخیص اختصاصی استافیلوکوکوس اورئوس از جمله رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، کواگولاز لوله‌ای، کواگولاز اسلایدی، تخمیر مانیتول، DNase و نوکلئاز مقاوم به حرارت تعیین هویت گردیدند. همچنین ژن sa442 به‌عنوان مارکر ژنتیکی جهت تأیید سویه‌ها به‌عنوان استافیلوکوکوس اورئوس، در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز PCR به‌کار گرفته شد.

سپس جهت تشخیص مقاومت القایی به کلیندامایسین، آزمون D بر اساس دیسک دیفیوژن با قرارگیری کلیندامایسین (۲میلی‌گرمی) در کنار اریترومایسین (۱۵ میلی‌گرمی) انجام پذیرفت، همچنین جهت تشخیص فنوتیپی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین از دیسک ۳۰ میلی‌گرمی سفوکسیتین و اگزاسیلین ۱۰ میلی‌گرمی طبق دستورالعمل CLSI استفاده گردید. (تمامی دیسک‌ها از شرکت MAST انگلستان تهیه شده بودند) (۱۲ و ۱۷).

جهت انجام آزمون دی (D) سوسپانسیونی معادل نیم مک فارلند از کشت ۲۴ ساعته ایزوله‌های جدا گشته تهیه، سپس با استفاده از سواپ استریل آغشته شده به سوپانسیون بر روی محیط مولر هینتون آگار[3] کشت داده شدند. سپس دیسک‌های اریترومایسین و کلیندامایسین به فاصله ۲۰ میلی‌متر از هم بر روی سطح محیط مولر هینتون آگار قرار داده شدند. پلیت‌ها ۱۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و پس از گذشت این زمان نتایج خوانده شدند و انواع فنوتیپ‌ها ثبت گردیدند. بدین‌ترتیب که بعد از انکوباسیون وجود ناحیه عدم رشد به شکل D در اطراف دیسک کلیندامایسین نشان‌دهنده مقاومت القایی و القا تولید متیلاز به‌وسیله اریترومایسین می‌باشد. اگر ناحیه عدم رشد به شکل D در اطراف دیسک کلیندامایسین دیده نشد یعنی آزمون دی منفی می‌باشد.

تایپینگ مولکولی سویه‌ها با روش spa typing

استخراج DNA سویه‌ها به‌وسیله کیت استخراج تهیه شده از کمپانی Bioflux-bioer کره جنوبی صورت پذیرفت.

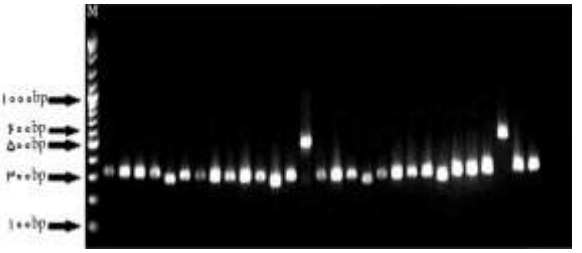
تایپینگ مولکولی سویه‌ها نیز با استفاده از آمپلیفیکاسیون ناحیه متغیر (X) ژن کد کننده پروتئین A (ژن spa)، به‌وسیله PCR صورت پذیرفت. پرایمرها شامل پرایمر رفت با توالی spaF:5´ AGACGATCCTTCGGTGAGC 3´

[3] Mueller-Hinton Agar

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-08-16]

و پرایمر برگشت با توالی
spaR:5´GCTTTTGCAATGTCATTTACTG 3´

بوده (۱۳)، سایز محصول با توجه به متغیر بودن ناحیه X بین ۳۰۰ تا ۶۰۰ جفت باز در نظر گرفته شد (شکل ۲). تکثیر قطعه مورد نظر با استفاده از دستگاه ترموسایکلر با دمای دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه، سپس ۳۰ سیکل با دمای دناتوراسیون ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه، اتصال ۶۰ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه و مرحله گسترش ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۴۵ ثانیه و مرحله گسترش نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه صورت پذیرفت.

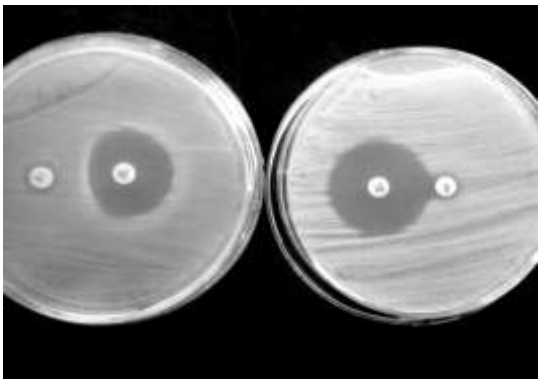


شکل ۲) الکتروفورز محصول PCR مربوط به ژن spa، سایز محصولات بین ۳۰۰ تا ۶۰۰ bp، مارکر ۱۰۰ bp

واکنش در حجم ۵۰ میکرولیتر انجام پذیرفت بدین‌ترتیب که ۱/۵ میکرولیتر از پرایمر رفت، ۱/۵ میکرولیتر از پرایمر برگشت (۱۰ پیکومول)، ۲ میکرولیتر ازDNA به‌عنوان الگو، ۲۵ میکرولیتر از Master mix 2XTaq (vivantis) و ۲۰ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر استفاده گردید. الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱ درصد و ولتاژ ۷۰ به‌مدت ۱/۵ ساعت صورت پذیرفت. سپس ژل با استفاده از نور ماورابنفش مورد ارزیابی قرار گرفت باند به‌دست آمده در محدوده ۳۰۰ الی ۶۰۰ جفت باز در مقایسه با DNA size marker 100bp (Fermentas)) به‌عنوان قطعه مورد نظر از ژن spa در نظر گرفته شد. توالی یابی تمامی محصولات PCR پس از خالص سازی آن، به‌وسیله شرکت ژن فن‌آوران صورت پذیرفت. سپس با استفاده از سرور spaServer.ridom.de تایپینگ مولکولی سویه‌ها صورت پذیرفت.

یافته‌ها

۶ نمونه (۷ درصد) از ۸۴ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از جامعه دانشجویان، مقاوم به متی‌سیلین (CA-MRSA) و ۷۸ نمونه (۹۳ درصد) حساس به متی‌سیلین (CA-MSSA) بودند که این نتایج با به‌کار بردن دیسک‌های سفوکسیتین و اگزاسیلین به‌دست آمد. نتایج آزمون دی به‌صورت زیر می‌باشد: از ۸۴ سویه استافیلوکوکوس اورئوس ۸ نمونه (۹/۵ درصد) دارای مقاومت ساختمانی بود و به هر دو دیسک اریترومایسین وکلیندامایسین مقاومت نشان داد. این نمونه ها فنوتایپ cMLSB را نشان دادند. ۸ سویه اشاره شده، دارای spa تایپ‌های t۱۹۴۴ ، t۰۸۴، t۳۲۰۴، t۰۱۲، t۵۵۹۸، t۳۰۴، t۷۰۱، t۶۶۰ بودند، ۲ نمونه (۲/۵ درصد) دارای مقاومت القایی بود و آزمون دی برای آن‌ها مثبت شد. بدین‌ترتیب که این دو سویه به اریترومایسین مقاوم و هاله عدم رشد آن‌ها در اطراف دیسک کلیندامایسین به شکل حرف D بود و دارای فنوتایپiMLSB بودند (شکل ۱).



شکل ۱) فنوتایپ دی مثبت (سمت چپ) که دارای مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین بوده، فنوتایپ دی منفی (سمت راست) که نسبت به کلیندامایسین حساس و به اریترومایسین مقاوم بوده‌اند.

همچنین این دو سویه دارای spa تایپ t۰۷۷ و t۹۰۲۴

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-08-16]

بودند. ۲ نمونه (۲/۵ درصد) دارای آزمون دی منفی بود، به اریترومایسین مقاوم و به کلیندامایسین حساس بود و فنوتیپ MSB را نشان دادند (شکل ۱). این دو سویه نیز دارای spa تایپ t۰۸۴ و t۱۱۴۹ بودند. ۷۲ نمونه (۸۵/۵ درصد) دارای فنوتایپ حساس بود و به هر دو دیسک کلیندامایسین و اریترومایسین حساس بودند. ضمناً ۲ سویه مقاوم به متی سیلین اکتسابی از جامعه دارای مقاومت ساختمانی و ۴ سویه دیگر دارای فنوتیپ حساس بودند.

بحث

در این پژوهش مقاومت ساختمانی و القایی در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس اکتسابی از جامعه با توجه به تیپ‌بندی مولکولی spa مورد بررسی قرار گرفته است.

کلیندامایسین با فراوانی بالا در درمان عفونت‌های پوستی، بافت‌های نرم و عفونت‌های استخوانی ایجاد شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس به‌کار می‌رود (۳). قابلیت جذب بالا، ارزان بودن و قابل تحمل بودن، نفوذ بالا در پوست و ساختمان‌های مربوط به آن، داشتن فرم خوراکی و به‌وجود آوردن غلظت سرمی مناسب که تقریباً نزدیک به غلظت ایجاد شده توسط استفاده دارو به‌صورت داخل رگی می‌باشد، کلیندامایسین را به‌عنوان داروی جایگزین جهت درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس اکتسابی از بیمارستان و جامعه مطرح کرده است (۴-۲). این دارو در درمان انواع مختلفی از عفونت‌های ایجاد شده توسط سویه‌های حساس استافیلوکوکوس اورئوس در کودکان نیز کاربرد دارد (۵). افزایش در مصرف این دارو باعث ایجاد مقاومت نسبت به آن در استافیلوکوکوس‌ها گشته است. شکست در درمان به‌وسیله کلیندامایسین به‌علت مقاومت‌های ساختمانی و یا به‌وسیله حضور القا کننده‌ها می‌باشد که باعث مقاومت القایی می‌شوند (۸-۵، ۱۰ و ۱۴).

گزارش‌هایی مبنی بر شکست درمان به‌وسیله کلیندامایسین یا لینکومایسین در درمان انواع عفونت‌های ایجاد شده به‌وسیله استافیلوکوکوس اورئوس‌ها منتشر گشته که مربوط به‌وجود مقاومت القایی نسبت به این آنتی‌بیوتیک بوده است (۱۱).

در حال حاضر مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین در استافیلوکوکوس اورئوس اکتسابی از بیمارستان و جامعه رو به افزایش می‌باشد (۷). این مقاومت در استافیلوکوکوس اورئوس بسته به منطقه جغرافیایی متفاوت می‌باشد، حتی بروز این نوع مقاومت از یک بیمارستان تا بیمارستان دیگر دارای تنوع است که بسته به الگوی مصرف اریترومایسین در هر منطقه و هر کشور دارد (۳ و ۷).

باکتری‌هایی که مقاومت القایی را از خود نشان می‌دهند در شرایط آزمایشگاهی به اریترومایسین مقاوم و به کلیندامایسین حساس می‌باشند. این باکتری‌ها در حضور القا کننده‌های قوی آنزیم متیلاز مانند ماکرولیدها، مقاومت القایی را از خود نشان می‌دهند. سوش‌های مقاوم به اریترومایسین را اگر مقاوم به کلیندامایسین در نظر بگیریم، در صورت عدم وجود مقاومت القایی در این سویه‌ها، بهره‌گیری از یک آنتی‌بیوتیک مناسب را از دست داده‌ایم. همچنین اگر این سوش‌ها را حساس به کلیندامایسین در نظر بگیریم در صورت داشتن مقاومت القایی شکست درمان را افزایش داده‌ایم. (۳، ۴، ۶، ۷ و ۱۵).

بنابراین لازمه انجام آزمون D به‌عنوان یک آزمون ساده، ارزان و قابل انجام برای استافیلوکوکوس

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-08-16]

اورئوس و حتی استافیلوکوکوس‌های کواگولاز منفی در آزمایشگاه میکروب‌شناسی با توجه به گسترش مقاومت القایی در بیمارستان و جامعه هر چه بیشتر احساس می‌گردد. همچنین سوش‌هایی را که فنوتیپ D را نشان می‌دهند، باید مقاوم به کلیندامایسین در نظر گرفت. در مطالعه ما فراوانی مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین برای اولین بار در ایران بر روی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس اکتسابی از جامعه صورت پذیرفته، مطالعاتی که قبلا در ایران انجام شده است بر روی سویه‌های اکتسابی از بیمارستان و نمونه‌های بالینی صورت پذیرفته است (۳ و ۴).

میزان مقاومت ساختمانی در این بررسی بیشتر از مقاومت القایی بود و میزان مقاومت القایی برابر با ۲/۵ درصد از نمونه‌ها به‌دست آمد که این مقدار کمتر از میزان مقاومت القایی در بین سویه‌های اکتسابی از بیمارستان در مطالعات پیشین انجام شده در ایران می‌باشد (۳ و ۴).

در مطالعه کنونی تایپینگ مولکولی به‌دست آمده با روش spa typing از سویه‌هایی که دارای فنوتیپ D مثبت بوده با سویه‌هایی که دارای مقاومت ساختمانی و یا D منفی بوده به‌جز در یک مورد، متفاوت بود که این خود نشان دهنده تفاوت ژنوتیپی و اپیدمیولوژیکی استافیلوکوکوس اورئوس‌هایی با انواع فنوتایپ‌های مقاومتی نسبت به کلیندامایسین می‌باشد.

مطالعه‌ای به‌وسیله پاتل (Patel) و همکاران در انگلستان (۱۴) جهت بررسی شیوع مقاومت القایی مابین سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس اکتسابی از بیمارستان و جامعه صورت پذیرفته که در این بررسی شیوع مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین در سوش‌های استافیلوکوکوس اورئوس اکتسابی از جامعه کمتر از سوش‌های کسب شده از بیمارستان بود (۳۳ درصد در برابر ۵۵ درصد). این محققین همچنین بیان داشتند با توجه به شیوع کم مقاومت القایی در میان استافیلوکوکوس اورئوس اکتسابی از جامعه، کلیندامایسین داروی مناسبی جهت درمان این گونه از عفونت‌ها می‌باشد. بنابراین با توجه به شیوع اندک مقاومت القایی در این بررسی، می‌توان پیشنهاد مشابهی را در استفاده از کلیندامایسین در این منطقه جغرافیایی ارائه نمود.

شجاع و همکاران در ایران جهت تعیین میزان شیوع مقاومت القایی، ۱۰۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس و ۱۰۰ سویه استافیلوکوکوس اپیدرمیس جدا شده از نمونه‌های بالینی را با به‌کار بردن آزمون D مطالعه کردند که در این بررسی ۵ سویه از استافیلوکوکوس اورئوس‌ها دارای مقاومت القایی بود و فنوتایپ D را نشان دادند. یک ایزوله دارای فنوتایپ D+ بود در حالی‌که فقط یک سویه از استافیلوکوکوس اپیدرمیس دارای فنوتایپ D بود (۳).

بنابر یافته‌های این مطالعه میزان مقاومت القایی در بین استافیلوکوکوس اورئوس‌ها بیشتر از اپیدرمیس می‌باشد. همچنین با توجه به جهش ایزوله‌هایی که مقاومت القایی دارند و تبدیل‌شان به سویه‌های دارای مقاومت ساختمانی لازم است جهت جلوگیری از شکست درمان، تمامی سویه‌های مقاوم به اریترومایسین و حساس به کلیندامایسین در آزمایشگاه از نظر مقاومت القایی مورد بررسی واقع گردند. مقایسه نتایج این تحقیق با بررسی شجاع بیانگر این نکته است که علی‌رغم گذشت پنج سال هنوز الگوی مقاومت کلیندامایسینی افزایش چشمگیری نداشته است که می‌تواند استفاده محدود و مناسب این آنتی‌بیوتیک در درمان عفونت‌های استافیلوکوکی باشد (۳). اگر چه تعمیم این نتایج به کل کشور نیازمند

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-08-16]

مطالعه و بررسی‌های بیشتری می‌باشد.

در مطالعه‌ای دیگر که توسط لاوالی (Lavallee) و همکاران در کانادا (۱۰) بر روی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس‌های کواگولاز منفی جدا شده از نمونه‌های بیمارستانی صورت پذیرفته که برای نخستین بار، حساسیت و ویژگی دو روش آگار دایلوشن و vitek2 را که جهت تشخیص مقاومت القایی وجود دارند ولی توسط CLSI توصیف نشده‌اند با آزمون D مقایسه کرده‌اند. حساسیت و ویژگی آگار دایلوشن و vitek2 در این بررسی خوب بیان شد. ولی آزمون D حساسیت بیشتری نسبت به این دو روش را نشان داد. بنابراین لزوم انجام آزمونی با حساسیت بالا (تست D) در تعیین مقاومت کلیندامایسین علی‌الخصوص نوع القایی آن بر روی سویه‌های جدا شده از بیماران تأکید می‌گردد.

با توجه به نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، کلیندامایسین با توجه به شیوع پایین مقاومت القایی و ساختمانی می‌تواند در درمان ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس اکتسابی از جامعه مؤثر باشد.

لازمه انجام آزمون D در تعیین مقاومت القایی به‌عنوان آزمونی ساده و با حساسیت و ویژگی بالا در استافیلوکوکوس اورئوس‌های اکتسابی از جامعه احساس می‌شود. با توجه به‌روش spa typing ایزوله‌هایی که دارای مقاومت ساختمانی و القایی می‌باشند، از لحاظ spa type متفاوت می‌باشند. پیشنهاد می‌گردد که در آینده مطالعات دیگری جهت بررسی استافیلوکوکوس اورئوس‌های اکتسابی از جامعه در دیگر نقاط ایران و نیز دیگر گروه‌های جمعیتی (مانند کودکان و ورزشکاران) صورت بپذیرد.

سپاس و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک بابت تأمین هزینه‌های مالی و کلیه کسانی که مجریان را در انجام این طرح یاری نمودند تشکر به عمل می‌آید.

References:

1.Adaleti R, Nakipoglu Y, Ceran N, et al. Prevalence of phenotypic resistance of Staphylococcus aureus isolates to macrolide, lincosamide, streptogramin B, ketolid and linezolid antibiotics in Turkey. Braz J Infect Dis 2010; 14: 11-4.

2.Aktas Z, Aridogan A, Kayacan CB, et al. Resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics in staphylococci isolated in Istanbul, Turkey. J Microbiopl2007; 45: 286-90.

3.Shoja S, Nahaei MR, Nahaei M. Detection of Inducible Clidamycin Resistance in Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis by Using D-Test. Pharmacol Sci 2009; 15: 1-8.

4.Nafisi MR, Shariaty L, Validi M, et al. Prevalence of constitutive and inducible resistance to clindamycin in staphylococci isolates from Hajar and Kashani hospitals in Shahrekord, 2008. J Shahrekord Univ Med Sci 2010; 12: 13-20.

5.Chavez-Bueno S, Bozdogan B, Katz K, et al. Inducible clindamycin resistance and molecular epidemiologic trends of pediatric community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Dallas, Texas. Antimicrob Agents chemother 2005; 49: 2283-8.

6.Woods CR. Macrolide-inducible resistance to clindamycin and the D-test. Pediatr Infect Dis J 2009; 28: 1115-8.

7.Schreckenberger PC, Ilendo E, Ristow KL. Incidence of constitutive and inducible clindamycin resistance in Staphylococcus aureus and coagulase-negative staphylococci in a community and a tertiary care hospital. JClin Microbiol 2004; 42: 2777-9.

8.Lim HS, Lee H, Roh KH, et al. Prevalence of inducible clindamycin resistance in staphylococcal isolates at a Korean tertiary care hospital. Yonsei Med J 2006; 47: 480-4.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-08-16]

9.O'Sullivan MV, Cai Y, Kong F, et al. Influence of disk separation distance on accuracy of the disk approximation test for detection of inducible clindamycin resistance in Staphylococcus spp. J Clin Microbiol 2006; 44: 4072-6.
10.Lavallee C, Rouleau D, Gaudreau C, et al. Performance of an agar dilution method and a Vitek 2 card for detection of inducible clindamycin resistance in Staphylococcus spp. J Clin Microbiol 2010; 48: 1354-7.
11.Fiebelkorn KR, Crawford SA, McElmeel ML, et al. Practical disk diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in Staphylococcus aureus and coagulase-negative staphylococci. J Clin Microbiol 2003; 41: 4740-4.
12.Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Appproved standard 2006; 26: M7-A7.
13.Ruimy R, Maiga A, Armand-Lefevre L, 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. J Bacteriol 2008; 190: 3962-8.
14.Patel M, Waites KB, Moser SA, et al. Prevalence of inducible clindamycinresistance among community-and hospital-associated Staphylococcus aureus isolates. J Clin Microbiol 2006; 44: 2481-4.
15.Drinkovic D, Fuller ER, Shore KP, et al. Clindamycin treatment of Staphylococcus aureus expressing inducible clindamycin resistance. J Antimicrob Chemother 2001; 48: 315-6.
16.Centers for Disease Control and Prevention. Outbreaks of community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus skin infections—Los Angeles county, California, 2002–2003. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2003; 52: 88.
17.Shariati L, Validi M, Shojapur M, et al. 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. ISMJ 2012; 2: 93-100.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-08-16]

ISMJ 2014; 17(1): 33-41

Original Article

Molecular characterization of clindamycin constitutive and inducible Resistance Staphylococcus aureus strains' isolated from nose of carriers

A. Japoni-Nejad [1, 2], M. Rezazadeh [1,2], H. Kazemian [2], N. Fardmousavi [2], E. Ghaznavi-Rad [2*]

[1] *Student Research Committee, Arak University of Medical Sciences, Arak, IRAN*
[2] *Department of Microbiology & Immunology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, IRAN*
[3] *Molecular Medicine Research Center, Arak University of Medical Sciences, Arak, IRAN*

(Received 28 May, 2012 Accepted 1 Jul, 2012)

Abstract

Background: Increasing frequency of Staphylococcus aureus infections and changes in antimicrobial resistance pattern have led to renewed interest in the use of lincosamide– streptogramin B (MLSB) antibiotics for treatment of infections. Since no study has focused on the molecular epidemiology of community -acquired staphylococcus aureus isolates in Iran, the aim of this study was to determine the molecular typing and prevalence of the macrolides-lincosamides-streptogramins B (MLSB) resistance in community associated s.aureus isolated from healthy students at Arak university of Medical sciences.

Material and Methods: 568 healthy students from Arak university of Medical sciences were subjected to this study. All samples were subjected to S. aureus–specific isolation procedures. D test was performed to determine various phenotypes as well as spa typing done for molecular typing of these strains.

Results: Of 568 the 84 community acquired Staphylococcus aureus, six (7%) were Methiclicin resistant Staphylococcus aureus (CA-MRSA) and 78(93%) were Methicillin sensitive Staphylococcus aureus (CA-MSSA) of the 84 s.aureus strains, eight (9.5%) showed constitutive resistance with spa type t660, t701, t304, t5598, t012, t3204, t084 and t1944. Two strains (2.5%) demonstrated inducible resistance with spa type t9024, t077, two strains (2.5%) were D test negative with spa type t084 and t1149. 72(85.5%) strains. Illustrated susceptible Phenotype. Among CA-MRSA isolates, two strains had constitutive resistance and four remaining CA-MRSA had susceptible phenotype

Conclusion: The result of this study indicates that in community associated s.aureus strains, constitutive MLSB resistance rate is higher than the rate of inducible resistance. Presence of inducible resistance to clindamycin in CA-MRSA strains, warrants that D test should be performed to detect this type of resistance. All isolates with inducible and constitutive resistance and D zone negative strains had different molecular typings.

Keywords: *s.aureus*, D test, nasal carrier, inducible clindamycin resistance, spa type

*****Address for correspondence*: Department of Microbiology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, IRAN; E-mail: e.ghaznavirad@arakmu.ac.ir

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-08-16]