



## تیپ‌بندی مولکولی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس دارای مقاومت

### القایی و ساختمانی نسبت به کلیندامایسین جدا شده از ناقلین بینی

علیرضا ژاپونی‌نژاد<sup>۱</sup>، محسن رضازاده<sup>۱</sup>، حمید کاظمیان<sup>۲</sup>، نسیمه فردموسوی<sup>۲</sup>

احسان اله غزنوی‌راد<sup>۳</sup>\*

<sup>۱</sup> کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، ایران

<sup>۲</sup> گروه میکروبی‌شناسی و ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، ایران

<sup>۳</sup> 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 به وسیله سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و تغییر در الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، منجر به استفاده مجدد از آنتی‌بیوتیک‌های ماکرولید- لینکوزامید 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- لینکوزامید و استرپتوگرامین B برگرفته شده از جامعه دانشجویان دانشگاه علوم پزشکی اراک می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** از ۵۶۸ نمونه مربوط به سوآب 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 متی‌سیلین 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 t1۹۴۴، 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

## مقدمه

متیلاز نمی‌باشد و فقط در حضور ماده القا کننده مانند ماکرولید فعال می‌شود و فنوتایپ القایی (iMLSb) را به وجود می‌آورد (۵ و ۷).

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

مشکلی که در آزمایشگاه وجود دارد، عدم شناسایی مقاومت القایی (iMLSb) به وسیله آزمایش‌هایی است که به صورت معمول استفاده می‌شوند، در حالی که مقاومت ساختمانی (cMLSb) به راحتی 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، به وسیله 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، به عنوان 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

آنتی‌بیوتیک‌های ماکرولید (اریترومایسین، آزیترومایسین، اسپیرامایسین)، لینکوزامید (کلیندامایسین، لینکومایسین) و گروه B استرپتوگرامین‌ها<sup>۱</sup> (مانند کوینوپریستین) گروهی از آنتی‌بیوتیک‌ها هستند که در مجموع MLSb نامیده می‌شوند (۱-۳).

آن‌ها از نظر ساختاری متفاوت بوده ولی همگی دارای جایگاه اثر مشابهی می‌باشند و مانع سنتز پروتئین به وسیله اتصال به زیر واحد 50S ریبوزوم می‌گردند (۱-۳). MLSbها معمولاً در درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط استافیلوکوکوس‌ها به کار می‌روند (۴).

کلیندامایسین به علت 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، لینکوزامیدها و استرپتوگرامین B معمولاً در اثر تغییرات ریبوزومی است که به وسیله آنزیم متیلازی که به وسیله ژن‌های erm کد می‌گردد ایجاد می‌شود (۱ و ۳)، یا به وسیله پمپ‌های تراوشی که به وسیله ژن msr کد می‌گردند و با مصرف ATP باعث تراوش آنتی‌بیوتیک‌ها می‌گردند و یا به وسیله نوکلئوتیدیل ترانسفراز است که به وسیله ژن InuA کد می‌گردد و تنها باعث غیرفعال سازی لینکوزامیدها می‌گردد، ایجاد می‌شود (۱-۳).

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

<sup>1</sup> Streptogramins

<sup>2</sup> Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B

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 به صورت 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 سواب 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، کوآگولاز لوله‌ای، کوآگولاز 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 (۲ میلی‌گرمی) در کنار اریترومایسین (۱۵ میلی‌گرمی) انجام پذیرفت، همچنین جهت تشخیص فنوتایپی 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) سوپانسیون معادل نیم مک فارلند از کشت ۲۴ ساعته ایزوله‌های جدا گشته تهیه، سپس با استفاده از سواب استریل آغشته شده به سوپانسیون بر روی محیط مولر هیتون آگار<sup>۳</sup> کشت داده شدند. سپس دیسک‌های اریترومایسین و کلیندامایسین به فاصله ۲۰ میلی‌متر از هم بر روی سطح محیط مولر هیتون 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. بدین ترتیب 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

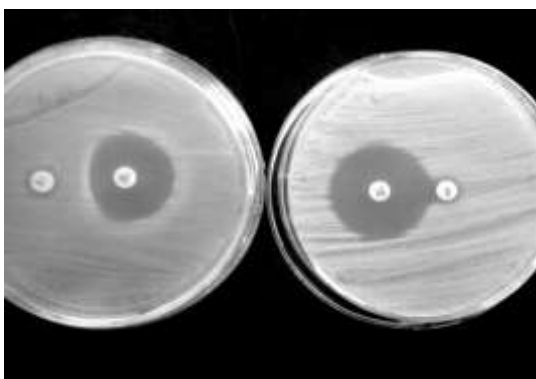
استخراج DNA سویه‌ها به‌وسیله کیت استخراج تهیه شده از کمپانی Bioflux-bioer کره جنوبی صورت پذیرفت. تایپینگ مولکولی سویه‌ها نیز با استفاده از آمپلیفیکاسیون ناحیه متغیر (X) ژن کد کننده پروتئین A (ژن spa)، به‌وسیله PCR صورت پذیرفت. پرایمرها شامل پرایمر رفت با توالی spaF: 5' AGACGATCCTTCGGTGAGC 3'

<sup>3</sup> Mueller-Hinton Agar

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 آگزا سیلین 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 اریترومايسين و کلیندامایسین مقاومت نشان داد. این نمونه‌ها فنوتایپ cMLSb را نشان دادند. ۸ سویه اشاره شده، دارای spa تایپ‌های t1944، t084، t3204، t012، t5598، t304، t701، t660 بودند، ۲ نمونه (۲/۵ درصد) دارای مقاومت القایی بود و آزمون دی برای آن‌ها مثبت شد. بدین ترتیب که این دو سویه به اریترومايسين مقاوم و هاله عدم رشد آن‌ها در اطراف دیسک کلیندامایسین به شکل حرف D بود و دارای فنوتایپ iMLSb بودند (شکل ۱).

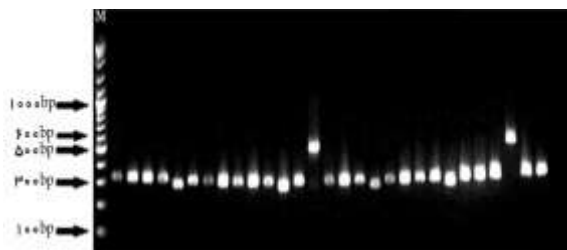


شکل ۱) فنوتایپ دی مثبت (سمت چپ) که دارای مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین بوده، فنوتایپ دی منفی (سمت راست) که نسبت به کلیندامایسین حساس و به اریترومايسين مقاوم بوده‌اند.

همچنین این دو سویه دارای spa تایپ t077 و t9024

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 به مدت ۵ دقیقه، سپس ۳۰ سیکل با دمای دناتوراسیون ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال ۶۰ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه و مرحله گسترش ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۴۵ ثانیه و مرحله گسترش نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت 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 بدین ترتیب که ۱/۵ میکرولیتر از پرایمر رفت، ۱/۵ میکرولیتر از پرایمر برگشت (۱۰ پیکومول)، ۲ میکرولیتر از DNA 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 به مدت 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

استافیلوکوکوس ها گشته است. شکست در درمان به وسیله کلیندامایسین به علت مقاومت های ساختمانی و یا به وسیله حضور القا کننده ها می باشد که باعث مقاومت القایی می شوند (۸-۵، ۱۰ و ۱۴).

گزارش هایی مبنی بر شکست درمان به وسیله کلیندامایسین یا لینکومایسین در درمان انواع عفونت های ایجاد شده به وسیله استافیلوکوکوس اورئوس ها منتشر گشته که مربوط به وجود مقاومت القایی نسبت به این آنتی بیوتیک بوده است (۱۱).

در حال حاضر مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین در استافیلوکوکوس اورئوس اکتسابی از بیمارستان و جامعه رو به افزایش می باشد (۷). این مقاومت در استافیلوکوکوس اورئوس بسته به منطقه جغرافیایی متفاوت می باشد، 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).

باکتری هایی که مقاومت القایی را از خود نشان می دهند در شرایط آزمایشگاهی به اریترومایسین مقاوم و به کلیندامایسین حساس می باشند. این باکتری ها در حضور القا کننده های قوی آنزیم تیلراز مانند ماکرولیدها، مقاومت القایی را از خود نشان می دهند. سوش های مقاوم به اریترومایسین را اگر مقاوم به کلیندامایسین در نظر بگیریم، در صورت عدم وجود مقاومت القایی در این سویه ها، بهره گیری از یک آنتی بیوتیک مناسب را از دست داده ایم. همچنین اگر این سوش ها را حساس به کلیندامایسین در نظر بگیریم در صورت داشتن مقاومت القایی شکست درمان را افزایش داده ایم. (۳، ۴، ۶، ۷ و ۱۵).

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

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 سویه های استافیلوکوکوس اورئوس اکتسابی از جامعه با توجه به تیپ بندی مولکولی spa مورد بررسی قرار گرفته است.

کلیندامایسین با فراوانی بالا در درمان عفونت های پوستی، بافت های نرم و عفونت های استخوانی ایجاد شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس به کار می رود (۳). قابلیت جذب بالا، ارزان بودن و قابل تحمل بودن، نفوذ بالا در پوست و ساختمان های مربوط به آن، داشتن فرم خوراکی و به وجود آوردن غلظت سرمی مناسب که تقریباً نزدیک به غلظت ایجاد شده توسط استفاده دارو به صورت داخل رگی می باشد، کلیندامایسین را به عنوان داروی جایگزین جهت درمان عفونت های ایجاد شده توسط سویه های استافیلوکوکوس اورئوس اکتسابی از بیمارستان و جامعه مطرح کرده است (۲-۴). این دارو در درمان انواع مختلفی از عفونت های ایجاد شده توسط سویه های حساس استافیلوکوکوس اورئوس در کودکان نیز کاربرد دارد (۵). افزایش در مصرف این دارو باعث ایجاد مقاومت نسبت به آن در

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 حالی که 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

اورئوس و حتی استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز منفی در آزمایشگاه میکروبی‌شناسی 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 قبلاً 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)

مطالعه و بررسی‌های بیشتری می‌باشد.

در مطالعه‌ای دیگر که توسط لاوالی (Lavalley) و همکاران در کانادا (۱۰) بر روی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز منفی جدا شده از نمونه‌های بیمارستانی صورت پذیرفته که برای نخستین بار، حساسیت و ویژگی دو روش آگار دایلوژن و vitek2 را که جهت تشخیص مقاومت القایی وجود دارند ولی توسط CLSI توصیف نشده‌اند با آزمون D مقایسه کرده‌اند. حساسیت و ویژگی آگار دایلوژن و vitek2 در این بررسی خوب بیان شد. ولی آزمون D حساسیت بیشتری نسبت به این دو روش را نشان داد. بنابراین لزوم انجام آزمون 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 به دست 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 آزمون ساده و با حساسیت و ویژگی بالا در استافیلوکوکوس اورئوس‌های اکتسابی از جامعه احساس می‌شود. با توجه به روش 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

بدین وسیله 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 Microbiol* 2007; 45: 286-90.
3. Shoja S, Nahaei MR, Nahaei M. Detection of Inducible Clindamycin 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. *J Clin 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.

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. Approved 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 clindamycin resistance 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.



*Original Article*

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

A. Japoni-Nejad<sup>1, 2</sup>, M. Rezazadeh<sup>1,2</sup>, H. Kazemian<sup>2</sup>, N. Fardmousavi<sup>2</sup>,  
E. Ghaznavi-Rad<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Student Research Committee, Arak University of Medical Sciences, Arak, IRAN

<sup>2</sup> Department of Microbiology & Immunology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, IRAN

<sup>3</sup> 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 Methicillin 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](mailto:e.ghaznavirad@arakmu.ac.ir)