شناسایی مقاومت القائی نسبت به کلیندامایسین در استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس با استفاده از تست D

سعید شجاع، محمد رضا نهائی*، مهریار نهائی

دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات کاربردی داروئی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۲/۶ ، تاریخ پذیرش: ۸۷/۵/۱

Detection of Inducible Clidamycin Resistance in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* by Using D-Test

Shoja S., Nahaei M.R.*, Nahaei M.

School of Medicine and Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Received: 3 Mar. 2008, Accepted: 22 July 2008

Objectives: Clindamycin is frequently used for treatment of staphylococcal infections, particulary in skin and soft tissue infections. Resistance to this antibiotic may be constitutive or inducible. Although constitutive resistance to clidamycin can be detectd by standard susceptibility testing methods, inducible clindamycin resistance is not detected by standard broth- or agar based susceptibility test methods. This type of resistance can be detected by a simple double disc diffusion test. The aim of this study was to determine the prevalence of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. **Methods:** For detection of inducible clindamycin resistance and to estimate the rate of resistance, 100 clinical isolates of each *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* were tested with disc diffusion method by using of erythromycin (15µg) and clindamycin (2µg) discs according to CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) guidline. **Results:** Five isolates of *Staphylococcus aureus* revealed inducible resistance and recorded as D phenotype and one isolate was D+, while only one isolate of *Staphylococcus epidermidis* was detected as D phenotype. **Conclusion:** Our results revealed that inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* (%6) is higher than *Staphylococcus epidermidis* (%1). Since isolates with inducible resistance may mutate and change to constitutive resistance, can lead to treatment failure. Therefore it is necessary to examine the inducible resistance in *Staphylococcus aureus* strains which are resistant to erythromycin and sensitive to clindamycin.

Key words: *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, D-test Clindamycin, Inducible Resistance.*

زمینه و هدف: جهت درمان عفونتهای استافیلوکوکی به ویژه عفونت های پوست و بافتهای نرم اغلب از کلیندامایسین استفاده میشود. در استافیلوکوکها مقاومت به این آنتی بیوتیک می تواند ساختمانی و یا القائی باشد. مقاومت ساختمانی به وسیله روشهای استاندارد براث یا آگار قابل تشخیص می باشد، ولی شناسایی مقاومت القایی با این تست ها امکان پذیر نیست. با استفاده از یک تست ساده Double دیسک دیفیوژن می توان این نوع مقاومت را شناسایی کرد. هدف این مطالعه تعیین میزان مقاومت القائی نسبت به کلیندامایسین در استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس بود. **روشها**: تعداد ۱۰۰ ایزوله بالینی استافیلوکوکوس اورئوس و ۱۰۰ ایزوله بالینی استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس جهت شناسایی مقاوت القائی به کلیندامایسین آزمایش شدند. روش دیسک دیفیوژن با استفاده از دیسک اریترومایسین (۱۵µg) و کلیندامایسین(۲µg) طبق دستور العمل CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) انجام شد. **یافته ها:** دربین ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس ۵ ایزوله دارای مقاومت القائی و فنو تیپ D و یک ایزوله دارای فنو تیپ D^+ بود در حالی که فقط یک ایزوله از استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس فنوتیپ D را نشان داد. **نتیجه گیری**: نتایج این مطالعه نشان می دهد که میزان مقاومت القائی در استافیلوکوکوس اورئوس (۶٪) بیشتر از استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (۱٪) می باشد و از آنجایی که ایزوله های با مقاومت القائی ممکن است جهش یافته و موجب بروز مقاومت ساختمانی شوند و این امرباعث شکست در درمان می گردد، بنابراین سویه هائی از استافیلوکوکوس اورئوس که در تست های آزمایشگاهی به اریترومایسین مقاوم و به کلیندامایسین حساس باشند لازم است از نظر مقاومت القائی مورد آزمایش قرار گیرند.

واژه های کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، تست D، کلیندامایسین، مقاومت القائی.*

*نویسنده مسئول: محمد رضا نهائی، استاد، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، تلفن: ۳۳۶٤٦٦١-۰٤۱۱، نمابر: ۳۳۶٤٦٦١-۰٤۱۱

**Corresponding Author: Mohammad Reza Nahaei, Professor, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. Tel: +98-411- 3364661; Fax: +98-411-3364661 , E-mail: nahaeim@yahoo.com*

Archive of SID

www.SID.ir

۱- مقدمه

آنتی بیوتیک های ماکرولید، لینکوزامید و گروه B استرپتوگرامین ها (که در مجموع MLS_B نامیده می شوند) از لحاظ ساختمانی با یکدیگر متفاوت بوده اما نحوه ی عمل مشابهی دارند. آنها به وسیله اتصال به زیر واحد ۵۰S ریبوزوم مانع سنتز پروتئین می شوند (۲،۱). این آنتی بیوتیک ها به عنوان آلترناتیو برای پنی سیلین ها و سفالوسپورین ها در درمان باکتری های گرم مثبت استفاده می شوند.

کلیندامایسین یک داروی انتخابی جهت درمان برخی از عفونت های استافیلوکوکی نظیر عفونت پوست و بافتهای نرم است. این دارو به دلیل دارا بودن فرم خوراکی، قابل تحمل بودن و قیمت مناسب، یک داروی مناسب جهت درمان این عفونتها می باشد. کلیندامایسین به خوبی در پوست و ساختارهای آن نفوذ می کند و بر خلاف داروهای بتالاکتام حتی جمعیت های زیاد میکروبی در محل عفونت نمی تواند فعالیت این آنتی بیوتیک را مهار نماید (۵-۳).

در حال حاضر استفاده گسترده از این آنتی بیوتیک ها موجب افزایش مقاومت در بین استافیلوکوکوس ها شده است (٦). در استافیلوکوک ها سه مکانیسم باعث ایجاد مقاومت در برابر آنتی بیوتیک های MLS_B می شود: اولین مکانیسم مقاومت توسط یک پمپ افلاکس ماکرولید ایجاد می شود. این پمپ تنها باعث مقاومت در برابر ماکرولیدها، آزالیدها (آزیترومایسین) و گروه B استرپتوگرامین ها می شود ولی لینکوزامید ها نظیر کلیندامایسین و لینکومایسین را تحت تاثیر قرار نمی دهد این سیستم افلاکس M (Macrolid) و یا MS_B (Macrolid Streptogramin B) نامیده می شود (۹-۱،۳،۷). دومین مکانیسم مقاومت شامل غیر فعال سازی لینکوزامیدها توسط آنزیم لینکوزامید نوکلئوتیدیل ترانسفراز است که به وسیله ژن lnuA ایجاد می شود (۱). سومین مکانیسم مقاومت که گسترده ترین نوع مقاومت نیز می باشد تغییر هدف اتصال دارو به وسیله آنزیم متیلاز است. این آنزیم توسط ژن *erm* (erythromycin ribosome methylase) تولید می شود. چهار نوع از این ژن ها وجود دارد *erm*A، *erm*B ، *erm*C و *erm*F که معمولترین این ژنها , *erm*C *erm*A است.

این ژنها آنزیم های متیلازی را کد می کنند که باعث متیله شدن 23S rRNA ریبوزوم پرو کاریوت ها شده و مانع از اتصال این داروها به محل هدف خود می شوند و از آن جایی که هر سه دسته داروها دارای محل اتصال مشترک هستند باکتری در برابر تمام آنتی بیوتیک های MLS_B مقاومت نشان می دهد که به این نوع مقاومت فنو تیپ MLS_B می گویند. این نوع مقاومت می تواند به دو صورت وجود داشته باشد : القائی یا ساختمانی(۱۲-۷،۸،۱۰). مقاومت القائی (Inducible): در این نوع مقاومت ژن *erm* یک mRNA غیر فعال تولید می کند که قادر به تولید متیلاز نیست و mRNA فقط در حضور یک ماده القاء کننده مثل ماکرولید به صورت فعال در می آید (۸).

استافیلوکوک هایی که مقاومت القائی دارند به اریترومایسین مقاوم و به کلیندامایسین حساس به نظر میرسند (۹) با این وجود در شرایط داخل بدن بعد از تماس با کلیندامایسین اینها می توانند موتاسیون یافته، دارای مقاومت ساختمانی شده و به تمام آنتی بیوتیکهای MLS_B مقاوم شوند (۱۳).

مقاومت ساختمانی Constitutive: در این نوع مقاومتmRNA متیلاز فعال به طور پیوسته و مداوم حتی در غیاب یک ماده القاء کننده تولید می شود و نیازی به ماده القاء کننده ندارد (۸). سویه های با مقاومت ساختمانی به تمام دارو های MLS_B مقاوم می باشند و به این فنوتیپ $cMLS_B$ می گویند (٤،۹،۱۰).

به دلیل مطمئن نبودن تست های شناسائی حساسیت به کلیندامایسین هنگامی که پزشکان با عفونت استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به اریترومایسین مواجه می شوند از مصرف کلیندامایسین نیز خود داری می کنند (۳). اما نباید تمام سویه هایی که به اریترومایسین مقاوم می باشند به کلیندامایسین هم مقاوم در نظر گرفته شوند (۷).

به دلیل اینکه سویه هایی که توسط سیستم افلاکس مقاومت دارند نیز به اریترومایسین مقاوم و به کلیندامایسین حساس هستند ولی این سویه ها نمیتوانند در طول درمان به کلیندامایسین مقاوم شوند و کلیندامایسین می تواند در درمان این سویه ها استفاده شود (۹،١٤).

در آزمایشگاه مقاومت ساختمانی $cMLS_B$ به راحتی شناسائی می شود اما مقاومت القائی $iMLS_B$ به وسیله تست های بر پایه آگار یا broth قابل شناسایی

Archive of SID

www.SID.ir

نمی باشد (۷،۱۵،۱۶). در آزمایشگاه می توان با استفاده از یک تست ساده دیسک دیفیوژن مقاومت القائی را از مقاومت ساختمانی تشخیص داد. بدین صورت که طبق روش استاندارد دیسک دیفیوژن یک دیسک کلیندامایسین را در فاصله ۲۶-۱۵ میلیمتری از دیسک اریترومایسین قرار می دهند که بعد از انکوباسیون وجود یک ناحیه مهار رشد به شکل D در اطراف دیسک کلیندامایسین که لبه مسطح آن به سمت دیسک اریترومایسین است نشان دهنده مقاومت القائی می باشد و مشخص کننده این است که اریترومایسین تولید متیلاز را تحریک کرده و باعث مقاومت القائی شده است (۹،۱۷) و اگر هیچ گونه انحرافی در هاله عدم رشد کلیندامایسین رخ نداده باشد نشان دهنده این است که مقاومت القائی نبوده و بوسیله سیستم افلاکس می باشد (۱۸).

به دلیل اینکه هاله عدم رشد در این تست به شکل D است این تست را D می نامند (۳). در مقاومت ساختمانی (Constitutive) در تست های آزمایشگاهی باکتری به هر دو آنتی بیوتیک کلیندامایسین و اریترومایسین مقاوم می باشد (۹). هدف از این مطالعه شناسایی مقاومت القائی در بین ایزوله های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و تعیین میزان این نوع مقاومت در بین باکتری های تحت آزمایش بود.

۲- مواد و روشها

تعداد ۱۰۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس و ۱۰۰ ایزوله استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس از نمونه های بالینی (خون، زخم و ترشحات) از بیماران بستری شده در مراکز آموزشی درمانی دانشگاه علوم پزشکی تبریز شامل مراکز آموزشی و درمانی امام خمینی، کودکان و شهدا جدا شده و با استفاده از روش های استاندارد شامل رنگ آمیزی گرم، تست کاتالاز، تست کواگولاز لوله و لام، تخمیر مانیتول، DNase و حساسیت به نوبیوسین تعیین هویت شدند.

باکتری های مورد مطالعه توسط تست حساسیت به اگزاسیلین طبق دستور العمل CLSI آزمایش شدند. سپس جهت بررسی مقاومت القائی به کلیندامایسین، تست D با روش دیسک دیفیوژن با استفاده از دیسک اریترومایسین (۱۵µg) و دیسک کلیندامایسین(۲µg) (شرکت پادتن طب و MAST Group Ltd, Merseyside, UK) طبق دستور العمل CLSI انجام شد (۱۷).

بدین صورت که از کشت ۲٤ ساعته باکتریهای آزمایشی سوسپانسیونی معادل ۰/۵ مک فارلند تهیه و یک سواپ استریل را با این سوسپانسیون آغشته کرده و پس از گرفتن مایع اضافی بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. سپس دیسک های اریترومایسین و کلیندامایسین را با فاصله ۱۵، ۲۰و ۲٦ میلی متری قرار داده شد. پلیت ها به مدت ۱۸ ساعت در دمای°C ۳۵ انکوبه و پس از گذشت این زمان نتایج قرائت شده و انواع فنوتیپ ها ثبت شدند (جدول ۱ و شکل ۱).

۳- نتایج

تعداد ۱۰۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس و ۱۰۰ ایزوله استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس جهت شناسایی مقاومت القائی به کلیندامایسین آزمایش شدند. انواع فنوتیپ های بدست آمده از این ایزوله ها در جدول ۱ و شکل ۱ نشان داده شده است.

در استافیلوکوکوس اورئوس های مطالعه شده ٤۱٪ ایزوله ها مقاوم به متی سیلین و ۵۹٪ ایزوله ها حساس به متی سیلین بودند. همچنین ٤٤٪ ایزوله ها به اریترومایسین مقاوم بودند و میزان مقاومت به کلیندامایسین ۵۵٪ بود.

میزان مقاومت القائی به کلیندامایسین در٤ ایزوله (۹/۷۵٪) از ایزوله های مقاوم به متی سیلین دیده شد درصورتی که ۲ ایزوله (۳/۳۸٪) از ایزوله های حساس به متی سیلین مقاومت القائی را نشان دادند. در بین استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ۸۹٪ ایزوله ها مقاوم به متی سیلین و ۱۱٪ ایزوله حساس به متی سیلین بودند، همچنین۸۰٪ ایزوله ها به اریترومایسین مقاوم بودند و میزان مقاومت به کلیندامایسین ٤۹٪ بود.

تنها یک ایزوله از استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس های مقاوم به متی سیلین دارای فنوتیپ D و مقاومت القائی بود و در بین ایزوله های حساس به متی سیلین هیچ گونه مقاومت القائی دیده نشد.

درمیان استافیلوکوکوس اورئوس هایی که فنوتیپ S را نشان دادند. در یک مورد کلنی های ریز اطراف دیسک اریترومایسین رشد کرده بودند که پس

Archive of SID

www.SID.ir

از تست مجدد دارای فنوتیپ D بودند (شکل۱ قسمت G). فنوتیپ دیـــــگری در این مطالعه دیده شـد کـه در دیگـر مطالعـات بـه آن اشـاره ای نـشده بـود کـه بـاکتری بـه کلیندامایـسین مقـاوم و بـه اریترومایـسین حـــساس بـــود کـــه ایـــن فنوتیـــپ در ۱۷ ایزولـــه استافیلوکوکوس اورئوس و ۲ ایزولـه اسـتافیلوکوکوس اپیدرمیدیس دیده شد (شکل۱ قسمت F).

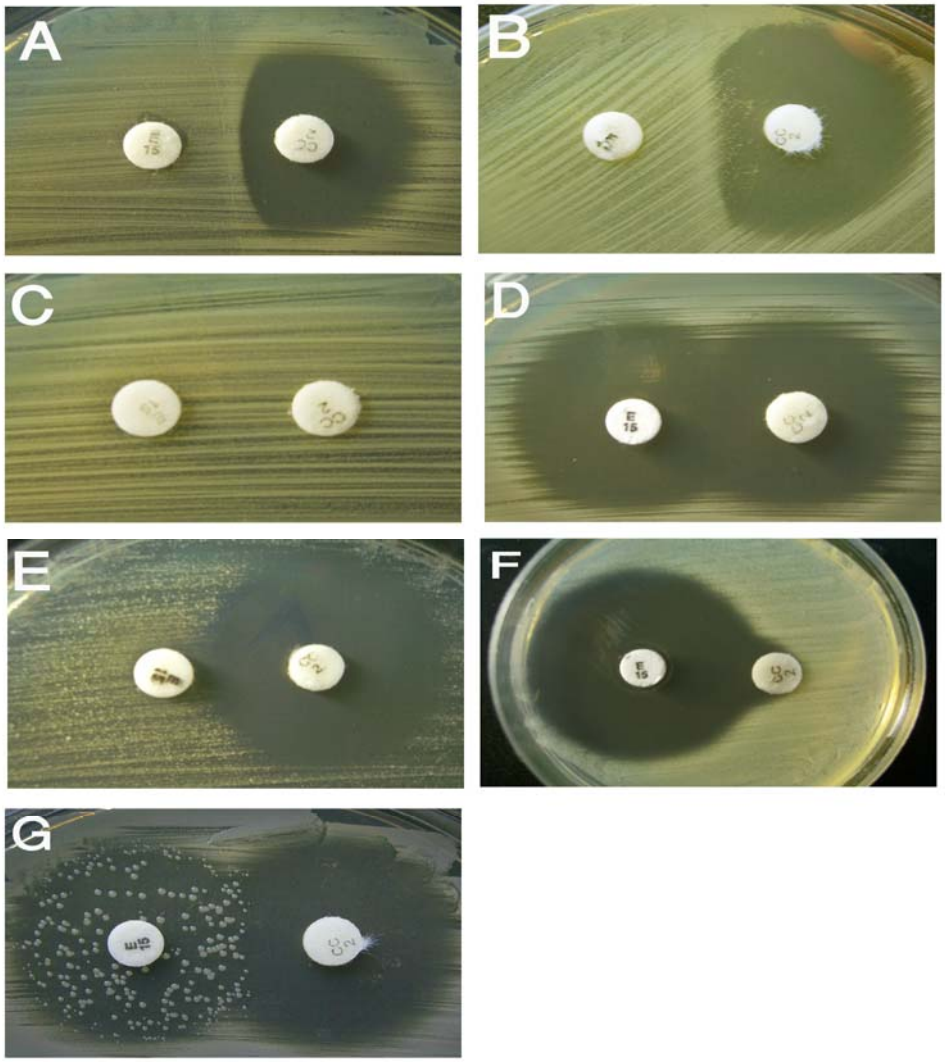
جدول۱. مشخصات انواع فنوتیپ های بدست آمده از تست D بر روی باکتری های آزمایشی

فنوتیپ تست القاء	فنوتیپ مقاوم	کلیندامایسین	اریترومایسین	توضیحات تست القاء	استافیلوکوکوس اورئوس (۱۰۰ ایزوله)	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (۱۰۰ ایزوله)
D	مقاومت القائی به MLS_B	حساس	مقاوم	هاله عدم رشد به شکل D در اطراف دیسک کلیندامایسین در نزدیکی دیسک اریترومایسین	۵	۱
D+	مقاومت القائی به MLS_B	حساس	مقاوم	هاله عدم رشد به شکل D در اطراف دیسک کلیندامایسین در نزدیکی دیسک اریترومایسین و رشد کلنی هایی از لبه مسطح هاله تا دیسک کلیندامایسین	۱	۰
Neg	فنوتیپ MS	حساس	مقاوم	هاله عدم رشد اطراف دیسک کلیندامایسین	۱	۳۲
HD	مقاومت ساختمانی MLS_B	مقاوم	مقاوم	دو هاله رشد در اطراف دیسک کلیندامایسین دیده می شودیک هاله D مانند وجود دارد که درون آن یک هاله مبهم از رشد نیـــز دیده می شود	۰	۰
R	مقاومت ساختمانی MLS_B	مقاوم	مقاوم	هیچ هاله نامشخصی وجود ندارد و باکتری ها تا لبه هر دو دیسک اریترو مایسین و کلیندامایسین رشد کرده اند	۳۹	٤٧
S	فاقد مقاومت	حساس	حساس	دو هاله عدم رشد واضح	۳۷	۱۸
فقط مقاومت در برابر کلیندامایسین	-	مقاوم	حساس	هاله عدم رشد اطراف دیسک اریترومایسین	۱۷	۲

D: D zone test, Neg: Negative, HD: Hazy D zone, R: Resistant, S: Sensitive

Archive of SID

www.SID.ir



شكل۱. فنوتيپ های مختلف در تست D در اين مطالعه: A، فنوتيپ D (مقاوم به اريترومايسين و كليندامايسين)؛ B، فنوتيپ D^{+} (مقاوم به اريترومايسين و كليندامايسين)؛ C، فنوتيپ R (مقاوم به اريترومايسين و كليندامايسين)؛ D، فنوتيپ S (حساس به اريترومايسين و كليندامايسين)؛ E، فنوتيپ Negative (مقاوم به اريترومايسين و حساس به كليندامايسين)؛ F، (حساس به اريترومايسين و مقاوم به كليندامايسين)؛ G، كلنی های رشد يافته درون هاله عدم رشد اريترومايسين كه پس از تست مجدد دارای فنو تيپ D بود.

٤- بحث

به دليل قابليت جذب بالا برای كليندامايسين از اين دارو اغلب جهت درمان عفونتهای پوست و استخوان ناشی از استافيلوكوكوسها استفاده می شود (۱۹). در حال حاضر مقاومت القائی نسبت به كليندامايسين در بين سويه های استافيلوكوكوس اورئوس جدا شده از بيمارستان و جامعه در حال افزايش است (۳). ميزان مقاومت القائی در استافيلوكوكوس اورئوس بين ۹۴-۷٪ درصد گزارش شده است (۲۰). بسته به مناطق مختلف جغرافيايی اين ميزان متفاوت است، حتی از يک بيمارستان تا بيمارستان ديگر و بين گروه بيماران نيز تفاوت نشان می دهد كه اين تنوع ممكن است در نتيجه الگوهای مختلف مصرف اريترومايسين در هر كشور و منطقه باشد (۲۰). استافيلوكوكوس اورئوس هايی كه مقاومت القائی و يا مقاومت با واسطه سيستم افلاكس را دارند هر دو در شرايط تستهای استاندارد آزمايشگاهی به اريترومايسين مقاوم و به كليندامايسين حساس هستند (۱۳) با وجود اينكه اين دو مكانيسم فنوتيپ های مشابهی دارند ولی دارای يكسری خصو صيات منحصر به فرد نيز می باشند. باكتری های با مقاومت القائی در حضور يک القاء كننده قوی متيلاز مثل ماكروليد های ١٤ يا ١٥ عضوی مقاومت القائی خود را نشان می دهند. ماكروليد های ١٦ عضوی، لينكوزاميد ها و استرپتوگرامين B القاء

Archive of SID

www.SID.ir

کننده های ضعیفی هستند (۲۱). علاوه بر این باکتریهای با مقاومت القائی میزان زیادی از جهش های خودبخودی دارند و این سویه ها حتی بدون حضور یک ماکرولید القاء کننده نیزجهش یافته و به سمت مقاومت ساختمانی پیش می روند. در شرایط داخل بدن هنگام درمان با کلیندامایسین این باکتری ها می توانند جهش یافته و به کلیه داروهای MLS_B مقاوم شوند (۳،۱۳،۱۸،۲۰). گزارشهایی از شکست درمان موجود است که باکتری قبل از درمان دارای مقاومت القائی بوده و در هنگام درمان مقاومت نشان داده و باعث شکست درمان گشته است. سویه های با مقاومت ساختمانی که کاملا به داروهای MLS_B مقاوم بوده اند بعد از شکست درمان از بیماران کشت داده شده اند (۱۸،۲۱،۲۲) باکتری هایی که مقاومت با واسطه افلاکس دارند نمی توانند در طول درمان با کلیندامایسین مقاوم شوند به دلیل اینکه کلیندامایسین یک القاء کننده و یا یک سوبسترا برای پمپ افلاکس نیست و کلیندامایسین می تواند با اطمینان در درمان این سویه ها استفاده شود (۸،۱۴،۲۰). در هنگام مواجهه باسویه هایی که به اریترومایسین مقاوم و به کلیندامایسین حساس هستند باید تست D انجام شود (۳) به دلیل اینکه اگر فرض بر این باشد که سویه با سیستم افلاکس حساس است ممکن است که باکتری دارای مقاومت القایی بوده و در طول درمان دچار جهش شده و باعث شکست درمان گردد و از سویی اگر با دیدن این فنوتیپ باکتری را دارای مقاومت القائی فرض کنیم ممکن است از مصرف کلیندامایسین در جائی که مصرف این آنتی بیوتیک می تواند موثر باشد جلوگیری کنیم (۵). پس تشخیص صحیح مقامت القائی جهت درمان مناسب بیماران و استفاده به جا از کلیندامایسین ضروری است ودر آزمایشگاه باید برای تمامی استافیلوکوکوس های مقاوم به اریترومایسین و حساس به کلیندامایسین تست D انجام شود و در صورت مثبت بودن، باکتری را مقاوم به کلیندامایسین و در صورت منفی بودن تست D، باکتری حساس به کلیندامایسین گزارش شود (۳،۱۲). تست D برای تمامی استافیلوکوکوس ها از جمله استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس های کواگولاز منفی حساس و مقاوم به متی سیلین قابل انجام است (۱۰).

Fiebelkorn و همکاران در سال ۲۰۰۳ در تگزاس، تعداد ۱۱۴ استافیلوکوکوس اورئوس و ۸۲ استافیلوکوکوس کواگولاز منفی را جهت شناسایی مقاومت القائی بررسی کرده و ۲۸/۹٪ از استافیلوکوکوس اورئوس ها و ۳۰/٤٪ از استافیلوکوکوس های کواگولاز منفی دارای مقاومت القائی بودند. این محققین اظهار داشتند که با روش ساده تست D ۹۷٪ استافیلوکوکوس اورئوس ها و ۱۰۰٪ استافیلوکوکوس های کواگولاز منفی دارای مقاومت القائی را شناسائی نمودند (٤).

Steward و همکاران در سال ۲۰۰۵ در آتلانتا، تعداد ۱۲۸ استافیلوکوکوس اورئوس را با روش دیسک دیفیوژن و Broth microdilution مطالعه کردند، که با روش دیسک دیفیوژن ۳۸ مورد مقاومت القائی مشاهده شد که ۲۱ ایزوله دارای فنوتیپ D و ۱۷ ایزوله فنوتیپ D^+ داشتند. این محققین اظهار داشتند که ایزوله های با فنو تیپ D^+ با روش Broth قابل شناسائی هستند ولی ایزوله های با فنوتیپ D با این روش شناسایی نمی شوند و روش دیسک دیفیوژن یک روش ساده و قابل قبول برای شناسایی مقاومت القائی در استافیلوکوکوس اورئوس است (۹).

Perez و همکاران در سال ۲۰۰٦ در برزیل تعداد ۲۰۰ سویه استافیلوکوکوس کواگولاز منفی را با روش دیسک دیفیوژن بررسی کردند که ۲/۵٪ دارای فنوتیپ D بودند. این محققین پیشنهاد دادند که روش دیسک دیفیوژن یک روش ساده و مهم در شناسائی مقاومت القائی به کلیندامایسین در استافیلوکوکوس های کواگولاز منفی است و می تواند به طور روتین در آزمایشگاهها استفاده شود (۱۰).

O'Sullivan و همکاران در سال ۲۰۰٦ در چین با مطالعه ۱٦۳ استافیلوکوکوس اورئوس و ٦۸ استافیلوکوکوس کواگولاز منفی نشان دادند که ۹۳/٦٪ استافیلوکوکوس اورئوس ها و ۳۳/۸٪ از استافیلوکوکوس های کواگولاز منفی دارای مقاومت القائی می باشند و اظهار نمودند که فاصله ۱۵ میلی متر بین دیسک ها در شناسائی مقاومت القائی دارای حساسیت وویژگی ۱۰۰٪ میباشد (۱٤). در این مطالعه از فواصل ۱۵، ۲۰ و ۲٦ میلیمتر بین دیسک ها استفاده شد و مشخص شد که فاصله ۱۵ میلی متر در شناسایی مقاومت القائی بهتر عمل می کند. سویه های با فنوتیپ D^+ باید توسط آزمایشگاه مقاوم به کلیندامایسین گزارش شوند. در این مطالعه فنوتیپ دیگری نیز مشاهده شد که باکتری به کلیندامایسین مقاوم و به اریترومایسین حساس بود که این حالت می تواند ناشی از غیر فعال شدن کلیندامایسین توسط

Archive of SID

www.SID.ir

آنزیم لینکوزامید نوکلئوتید ترانسفراز باشد که فقط لینکوزامیدها را غیر فعال می نماید (شکل۱، قسمت F). در مطالعه ما میزان مقاومت القائی در ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین ۹/۷۵٪ بود که مشابه نتایج حاصل از سایر مطالعات می باشد به طوری که میزان مقاومت القائی در سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین: ٤٪ در تایوان (۱)، ٥/٤٪ در ترکیه (٦)، ۳۲٪ در کره جنوبی (۱۵) و ۱۵٪ در یونان (۷) گزارش شده است. درمطالعه حاضر میزان مقاومت القائی در بین ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی سیلین ۳/۳۸٪ است که کمتر از میزانی است که از تایوان ۸٪ (۱)، ترکیه ۱۰/۷٪ (٦)، کره جنوبی ۳۵٪ (۱۵) و یونان ۲۰٪ (۷) گزارش شده است. میزان مقاومت القائی در بین ایزوله های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین ۱٪ بود که کمتر از میزان ۲۱٪ است که از یونان گزارش شده است (۷). لازم به ذکر است که در مطالعه ای در یونان مقاومت القائی را در ۳٤٪ از ایزوله های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس حساس به متی سیلین گزارش نمودند (۷). در این مطالعه هیچ گونه مقاومت القائی در بین ایزوله های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس حساس به متی سیلین دیده نشد.

۵- نتیجه گیری

با وجود بالا بودن مقاومت القائی در استافیلوکوکوس اورئوس هنوز آزمایشگاهها به صورت روتین از این تست استفاده نمی کنند و ممکن است سویه ها ی مقاوم را حساس گزارش کنند. روش دیسک دیفیوژن نیز ممکن است هنگامی که دیسک اریترومایسین در نزدیکی دیسک کلینداماسین قرار داده نشود به صورت اشتباه باکتری را حساس گزارش کند. بنا براین درآزمایشگاه باید تمام استافیلوکوک هایی که مقاوم به اریترومایسین و حساس به کلینداماسین باشند باروش استاندارد تست D طبق دستور العمل CLSI کنترل شوند و بدون انجام این تست نباید از کلینداماسین در درمان این سویه ها استفاده کرد. نتایج این مطالعه نشان می دهد که میزان مقاومت القائی در استافیلوکوکوس اورئوس خصوصا ایزوله های مقاوم به متی سیلین (MRSA) بالاتر بود و این هشدار می دهد که این نوع مقاومت غیر معمول نیست و جهت درمان مناسب بیماران و اطمینان از اثر بخشی کلینداماسین حتما از این تست جهت شناسائی مقاومت القائی استفاده شود.

Archive of SID

References:

1. Janapatla R.P., Yan J.J., Huang A.H., Chen H.M., Wu H.M., Wu J.J. Inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates causing bacteremia at a university hospital in southern Taiwan, Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 2007, 58(2): 203-9.
2. Leclercq R., Courvalin P. Bacterial resistance to macrolide, lincosamide, and streptogramin antibiotics by target modification, Antimicrob. Agents Chemother., 1991, 35(7): 1267-72.
3. Zelazny A.M., Ferraro M.J., Glennen A., Hindler J.F., Mann L.M., Munro S., et al. Selection of strains for quality assessment of the disk induction method for detection of inducible clindamycin resistance in staphylococci: a CLSI collaborative study, J. Clin. Microbiol., 2005, 43(6): 2613-5.
4. Fiebelkorn K.R., Crawford S.A., McElmeel M.L., Jorgensen J.H. Practical disk diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci, J. Clin. Microbiol., 2003, 41(10): 4740-4.
5. Schreckenberger P.C., Ilendo E., Ristow K.L. 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(6): 2777-9.
6. Delialioglu N., Aslan G., Ozturk C., Baki V., Sen S., Emekdas G. Inducible clindamycin resitance in staphylococci isolated from clinical samples, Jpn. J. Infect. Dis., 2005, 58(2): 104-6.
7. Fokas S., Fokas S., Tsironi M., Kalkani M., Dionysopouloy M. Prevalence of inducible clindamycin resistance in macrolide-resistant *Staphylococcus* spp., Clin. Microbiol. Infect., 2005, 11(4): 337-40.
8. Aktas Z., Aridogan A., Kayacan C.B., Aydin D. Resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics in staphylococci isolated in Istanbul, Turkey, J. Microbiol., 2007, 45(4): 286-90.
9. Steward C.D., Raney P.M., Morrell A.K., Williams P.P., McDougal L.K., Jevitt L., et al. Testing for induction of

www.SID.ir

clindamycin resistance in erythromycin-resistant isolates of *Staphylococcus aureus*, J. Clin. Microbiol., 2005, 43(4): 1716-21.
10. Perez L.R., Caierao J., Antunes A.L., Azevedo P.A. Use of the D test method to detection in inducible clindamycin resistance in coagulase negative staphylococci (CoNS), Braz. J. Infect. Dis., 2007, 11(2): 186-8.
11. Arthus M., Brisson-Noel A., Courvalin P. Origin and evolution of genes specifying resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics: data and hypothesese, J. Antimicrob. Chemother., 1987, 20(6): 783-802.
12. Lewis J.S., Jorgensen J.H. Inducible clindamycin resistance in staphylococci: should clinicians and microbiologists be concerned? Clin. Infect. Dis., 2005, 40(2): 280-5.
13. Navaneeth B.V. A preliminary in vitro study on inducible and constitiutive clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* from South Indian tertiary care hospital, Int. J. Infect. Dis., 2006, 10(2): 184-5.
14. O'Sullivan M.V., Cai Y., Kong F., Zeng X., Gilbert G.L. Influence of disk separation distance on accuracy of the disk approximation test for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus* spp., J. Clin. Micribiol., 2006, 44(11): 4072-6.
15. Lim H.S., Lee H., Roh K.H., Yum J.H., Yong D., Lee K., et al. Prevalence of inducible clindamycin resistance in staphylococcal isolates at a Korean tertiary care hospital, Yonesi Med. J., 2006, 47(4): 480-4.
16. Jorgensen J.H., Crawford S.A., McElmeel M.L., Fiebelkorn K.R. Detection of inducible clindamycin resistance of staphylococci in conjunction with performance of automated broth susceptibility testing, J. Clin. Microbiol., 2004, 42(4): 1800-2.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 16th informational supplement. CLSI document M 100-S17. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayen, PA. 2007.
18. Siberry G.K., Tekle T., Carroll K., Dick J. Failure of clindamycin treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* expressing inducible clindamycin resistance in vitro, Clin. Infect. Dis., 2003, 37(9): 1257-60.
19. Patel M., Waites K.B., Moser S.A., Cloud G.A., Hoesley C.J. Prevalence of inducible clindamycin resistance among community- and hospital- associated *Staphylococcus aureus* isolates, J. Clin. Microbiol., 2006, 44(7): 2481-4.
20. Drinkovic D., Fuller E.R., Shore K.P., Holland D.J., Ellis-Pegler R. Clindamycin treatment of *Staphylococcus aureus* expressing inducible clindamycin resistance, J. Antimicrob. Chemother., 2001, 48(2): 315-6.
21. Levin T.P., Suh B., Axelrode P., Truant A.L., Fekete T. Potential clindamycin resistance in clindamycin- susceptible, erythromycin- resistant *Staphylococcus aureus*: report of a clinical failure, Antimicrob. Agents Chemother., 2005, 49(3): 1222-4.
22. Rao G.G. Should clindamycin be used in treatment of patient with infections caused by erythromycin-resistant staphylococci? J. Antimicrob. Chemother., 2000, 45(5): 715.

Archive of SID

www.SID.ir