Archive OF SID

بررسی میزان شیوع مقاومت بنیادی و القایی کلیندامایسین در استافیلوکوک های جدا شده از نمونه های بالینی بیمارستان های هاجر و کاشانی شهرکرد، ۱۳۸۷

دکتر محمدرضا نفیسی*[1]، لاله شریعتی**، مجید ولیدی**، دکتر علی کریمی***

*استادیار میکروبیولوژی- مرکز تحقیقات سلولی، مولکولی-دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، **کارشناس ارشد میکروب شناسی-مرکز تحقیقات سلولی، مولکولی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ***دانشیار ویروس شناسی- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی-دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

تاریخ دریافت: ۸۸/۳/۳۰ تاریخ تایید: ۸۸/۹/۱۷

چکیده:

زمینه و هدف: **مقاومت به کلیندامایسین در استافیلوکوک به دو صورت بنیادی و القایی است. این مطالعه با هدف بررسی شیوع مقاومت بنیادی و القائی نسبت به کلیندامایسین در سویه های استافیلوکوک جدا شده از بیماران در بیمارستان های هاجر و کاشانی شهرکرد انجام شد.**

روش بررسی: **این تحقیق توصیفی- تحلیلی بر روی ۲۳۰ ایزولهٔ استافیلوکوک انجام شد. برای سویه های با فنوتیپ مقاوم به اریترومایسین و حساس به کلیندامایسین، تست D انجام گردید. در این تست دو دیسک اریترومایسین (15µg) و کلیندامایسین (2µg) با فاصلهٔ مراکز ۱۵ میلی متر، بر روی پلیت قرار داده شدند. پس از انکوباسیون، وجود هالهٔ عدم رشد به شکل D بررسی گردید. داده ها به کمک آزمون های آماری کای دو و فیشر تجزیه و تحلیل گردید.**

یافته ها: **از بین ۲۳۰ ایزولهٔ استافیلوکوکی، ۵۵/۶٪ حساس به کلیندامایسین بودند و ۳۷/۵٪ مقاومت بنیادی و ۵/۲٪ مقاومت القایی به کلیندامایسین داشتند. میزان مقاومت بنیادی و القایی به کلیندامایسین در ایزوله های استافیلوکوک مقاوم به متی سیلین (MRSA) به ترتیب ٦٦٪ و ۹٪ و در ایزوله های حساس به متی سیلین (MSSA) به ترتیب ۱۵/٤٪ و ۲/۳٪ بود. میزان مقاومت القایی در سویه های MRSA ٤/۲ برابر نسبت به سویه های حساس بود [OR=4.2, $CI_{95\%}$(۱/۱-۱۵/۹)] (P<۰/۰۵). همچنین میزان مقاومت القایی در سویه های MRSA نسبت به سویه های MSSA، ۱۰/۸ برابر بود [OR=10.8, $CI_{95\%}$(۱/۱-۱۵/۹)] (P<۰/۰۰۱).**

نتیجه گیری: **بر اساس نتایج این مطالعه تعیین مقاومت القایی در تمام سویه های استافیلوکوک مقاوم به متی سیلین و همچنین سویه های استافیلوکوک با فنوتیپ مقاوم به اریترومایسین، حساس به کلیندامایسین توسط تست D ضروری می باشد.**

واژه های کلیدی: استافیلوکوک، اریترومایسین، کلیندامایسین، مقاومت القایی، مقاومت بنیادی.

مقدمه:

سویه های مختلف *گونهٔ استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*) و گونه های استافیلوکوک کواگولاز منفی (Coagulase negative staphylococci=CNS) از عوامل عفونت های بیمارستانی و عفونت های اکتسابی از جامعه در سراسر جهان هستند (۱). گر چه افزایش شیوع مقاومت به متی سیلین در بین این باکتری ها، درمان را با مشکل اساسی مواجه ساخته است (۲)، ولیکن در آزمایشگاه (in vitro) حساسیت به آنتی بیوتیک های مختلف نظیر تری متوپریم- سولفامتاکسازول، تتراسیکلین، کینولون ها و فلوروکینولون ها، وانکومایسین، اریترومایسین و کلیندامایسین به کرات گزارش شده است (۶-۳). در حال حاضر از گروه آنتی بیوتیکی MLSB (Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B) برای درمان عفونت های استافیلوکوکی بطور وسیع استفاده می شود (۷). کلیندامایسین به خاطر خوراکی بودن و جذب گوارشی خوبی که دارد، گزینه عمده ای برای درمان بیماران سرپایی است و بعد از اتمام مصرف

[1] نویسنده مسئول: شهرکرد- رحمتیه-دانشکده پزشکی-مرکز تحقیقات سلولی، مولکولی-تلفن: ۰۳۸۱-۳۳٤٦۷۳۲، E-mail:mrnafisi@yahoo.com

www.SID.ir

Archive OF SID

آنتی بیوتیک های وریدی، داروی مناسبی محسوب می شود (۹،۸). به علاوه کلیندامایسین مقرون به صرفه است، نفوذ پذیری بافتی بالایی دارد (به استثنای سیستم اعصاب مرکزی)، در آبسه ها تجمع فراوان می یابد و به تنظیم دوز کلیوی نیازی ندارد، لذا برای درمان عفونت های پوست، بافت های نرم و عفونت های جدی و خطرناک استافیلوکوکی مناسب می باشد (۱۱،۱۰).

گروه آنتی بیوتیکی MLSB با اتصال به زیر واحد ۵۰s ریبوزومی، سنتز پروتئین را مهار نموده و باعث توقف رشد باکتری می گردند (۷). متاسفانه مقاومت علیه داروهای مزبور با یکی از مکانیسم های غیر فعال سازی آنزیماتیک دارو، تغییر سایت هدف، کاهش نفوذ پذیری و یا پس زدگی دارو (efflux) در حال گسترش است (۱۲،۴). وجود ژن msr A در استافیلوکوک ها موجب مقاومت نسبت به ماکرولیدها و استرپتوگرامین های تیپ B می شود که به فنوتیپ MSB (Macrolide -Streptogramin B) معروف است و بر روی فعالیت پمپ Efflux تاثیر می گذارد (۱۳،۱۱). در صورتی که مقاومت نسبت به گروه آنتی بیوتیکی MLSB در رابطه با وجود ژن erm A و یا erm C است و موجب تغییر سایت هدف در ریبوزوم های باکتری می شود (۱۵،۱۴،۱۱). ژن های erm (erythromycin resistance methylase) آنزیم هایی را کد می کنند که با متیله کردن 23SrRNA باعث کاهش اتصال گروه آنتی بیوتیکی MLSB به ریبوزوم ها شده و لذا در ایجاد مقاومت نسبت به آنها، به صورت بنیادی (Constitutive) و یا القایی (Inducible) مشارکت دارند (۱۵،۷). اگر در قسمت بالا دست ژن مزبور (5' upstream) موتاسیون اتفاق افتاده باشد، ژن بصورت بنیادی بیان می شود یعنی آنزیم متیلاز بطور دایم سنتز می گردد. در غیر این صورت به یک القا کننده مثل آنتی بیوتیک ماکرولیدی نیاز است تا با اتصال به توالی های Translation attenuator ژن مزبور، موجب بیان آن شود (۱۶،۸). ماکرولید های ۱۴ جزیی (اریترومایسین) و ۱۵ جزیی (آزیترومایسین) القاء کنندگان پر قدرتی هستند، در حالی که ماکرولیدهای ۱۶ جزیی (اسپیرومایسین)، لینکوزامیدها (کلیندامایسین) و استرپتوگرامین های تیپ B القاء کنندگان ضعیف می باشند (۱۷،۸،۷،۴).

در محیط آزمایشگاه (in vitro) مقاومت بنیادی نسبت به گروه آنتی بیوتیکی MLSB، توسط تست های تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی متداول نظیر براث یا آگار دایلوشن قابل ارزیابی است (۸). بنا به توصیه های NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) هر سویه ای از استافیلوکوک که طبق روش Kirby-Bauer هاله عدم رشدش در اطراف دیسک اریترومایسین ≥۲۳mm و در اطراف دیسک کلیندامایسین ≥۲۱ mm باشد، حساس به گروه آنتی بیوتیکی MLSB تلقی می شود ولی اگر هاله عدم رشد در اطراف هر یک از دیسک های مزبور ۱۴ mm ≤ باشد، مقاومت بنیادی به گروه آنتی بیوتیکی MLSB دارد و به عنوان سویهٔ MLSBc استافیلوکوکی ارزیابی می شود (۱۸). با تست های رایج تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی نمی توان مقاومت القایی نسبت به گروه آنتی بیوتیکی MLSB را تعیین کرد (۱۰،۸) و لذا در صورتی که هالهٔ عدم رشد یک ایزولهٔ استافیلوکوک در اطراف دیسک اریترومایسین ۱۴mm ≤ و در اطراف دیسک کلیندامایسین ≥۲۱mm باشد، سویهٔ مزبور مقاوم به اریترومایسین است ولیکن نسبت به کلیندامایسین ممکن است حساس واقعی و یا مقاومت القایی نوع MLSBi داشته باشد (۸،۷). اهمیت موضوع در این است که مقاومت بر علیه هر یک از اعضاء گروه آنتی بیوتیکی MLSB می تواند به سایر اعضاء این گروه تعمیم داده شود زیرا در بین آنها مقاومت تقاطعی وجود دارد (۲۰،۱۹). بنابراین سویهٔ مقاوم به اریترومایسین می تواند به غلط به کلیندامایسین نیز مقاوم فرض شود و لذا احتمال نادیده گرفتن و حذف یک آنتی بیوتیک مؤثر و مناسب وجود خواهد داشت و اگر سویهٔ مزبور

www.SID.ir

Archive OF SID

حساس به کلیندامایسین تصور شود، احتمال دارد باکتری از نوع MLSBi باشد، که در این حالت درمان با شکست مواجه خواهد شد (۲۱).

در آزمایشگاه مقاومت القایی در سویه های استافیلوکوک نسبت کلیندامایسین فقط در حضور یک القاءکننده قوی مثل اریترومایسین نشان داده خواهد شد. بطور معمول در تست های تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی به روش آگار دایلوشن که فاصلهٔ مراکز دیسک ها از یکدیگر حدود ۲۸-۲۵ میلی متر است، اثر القایی اریترومایسین اعمال نخواهد شد (۱۷،۷،۴). لذا بنا به توصیهٔ NCCLS در صورتی که فاصلهٔ مراکز دو دیسک اریترومایسین و کلیندامایسین بر روی محیط مولر هینتون آگار به ۱۵ الی ۲۰ میلی متر کاهش یابد، فصل مشترک هالهٔ عدم رشد اطراف دیسک کلیندامایسین و دیسک اریترومایسین در سویه های MLSBi استافیلوکوکوک به صورت مسطح و یک خط صاف در خواهد آمد و شکلی شبیه به حرف D ایجاد خواهد کرد و لذا تست مزبور به (D-test) double-disk diffusion test معروف است (۱۸).

با توجه به اینکه میزان شیوع سویه های MLSBi استافیلوکوکوک در مناطق جغرافیایی گوناگون و یا در دوره های زمانی مختلف، تفاوت می کند و لزوم انجام روزمرهٔ تست D در آزمایشگاه های تشخیص طبی هر منطقه به میزان شیوع سویهٔ مزبور و یا در خواست پزشک وابسته است، لذا این مطالعه به منظور تعیین فراوانی مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین در سویه های MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) و در سویه های MSSA (methicillin- sensitive *Staphylococcus aureus*) و در سویه های MRCNS (methicillin-resistant Coagulase negative staphylococcus) و در سویه های MSCNS (methicillin- sensitive Coagulase negative staphylococcus) در شهرکرد انجام شد.

روش بررسی:

در این مطالعه توصیفی- تحلیلی، مجموعاً ۲۳۰ ایزوله بالینی استافیلوکوک از بیمارستان های هاجر و کاشانی شهرکرد (۱۳۸۷) مورد بررسی قرار گرفتند.

ایزوله های جدا شده با استفاده از روش های معمول تشخیصی و بیوشیمیایی (تست کاتالاز، کواگولاز، تخمیر مانیتول و DNase) مورد تایید قرار گرفتند (۳). در بین ایزوله ها، موارد تکراری وجود نداشت و هیچ دو ایزوله ای مربوط به یک بیمار نبود. ۲۳۰ ایزوله استافیلوکوک از نمونه های بالینی بودند که شامل: ۵۹ نمونه از زخم، ۳۹ نمونه از خون، ۲۷ نمونه از پرتوئن، ۲۶ نمونه از ادرار، ۲۰ نمونه از تراشه، ۱۸ نمونه از سواب بینی، ۱۳ نمونه از مایع نخاع، ۱۲ نمونه از ترشحات چشم، ۱۰ نمونه از کاتتر ادراری و ۶ نمونه از برانول مورد بررسی قرار گرفتند. برای همه ایزوله ها (۱۳۱ گونه استافیلوکوکوس اورئوس و ۹۹ گونه استافیلوکوک کواگولاز منفی) تست حساسیت به اریترومایسین (دیسک ۱۵μg) و کلیندامایسین (دیسک ۲μg) به روش دیسک دیفیوژن بر طبق توصیه های NCCLS انجام گردید (۱۸). نتایج بعد از انکوباسیون ۱۸ ساعته در ۳۵°c بررسی شدند.

ایزوله هایی که هاله عدم رشدشان در اطراف دیسک اریترومایسین ۲۳mm≤ بود حساس، ۲۲ mm-۱۴ مقاومت حد وسط و ۱۳ mm≤ مقاوم به اریترومایسین ارزیابی شدند و ایزوله هایی که هاله عدم رشدشان در اطراف دیسک کلیندامایسین ۲۱ mm≤ بود حساس، ۲۰ mm-۱۵ مقاومت حد وسط و ۱۴ mm≤ مقاوم به کلیندامایسین ارزیابی شدند. تست D (double-disk diffusion test) برای ایزوله های حساس به کلیندامایسین و مقاوم به اریترومایسین (ER-R, CL-S) انجام گردید (۱۲).

سوسپانسیونی از باکتری مورد نظر با کدورتی مطابق با لوله ۰/۵ مک فارلند تهیه گردید وسپس برای شناسایی مقاومت القایی به کلیندامایسین، طبق دستورالعمل NCCLS با سوآپ استریل به صورت

www.SID.ir

Archive OF SID

گسترده بر روی محیط مولر هینتون آگارکشت داده شد . دیسک اریترومایسین (۱۵µg) و کلیندامایسین (۲µg) با فاصله mm ۱۵ از مراکز آنها، در سطح محیط کاشته شد. پلیت ها ۱۸ ساعت در c̊ ۳۵ انکوبه شدند. اگر هاله عدم رشد در اطراف دیسک اریترومایسین mm ۱۳≤ و کلیندامایسین mm ۲۱≤ و بصورت دایره ای شکل بود، باکتری از نظر مقاومت القایی منفی و حساس به آن و تست D منفی ارزیابی می شد (۱۲) و اگر هالهٔ مزبور در اطراف دیسک CL به شکل D باشد، یعنی فصل مشترک با دیسک اریترومایسین مسطح باشد، ارگانیسم مقاومت القایی دارد که بنابر توصیهٔ NCCLS چنین باکتری را باید مقاوم به کلیندامایسین ارزیابی کرد (۱۸). داده های به دست آمده به کمک آزمون های آماری فیشر و کای دو تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها:

از بین ۲۳۰ ایزوله بالینی استافیلوکوک ۶۰ مورد (۲۶/۱٪) MRSA، ۷۱ مورد (۳۰/۹٪) MSSA، ۴۰ مورد (۱۷/۴٪) MRCNS، ۵۹ مورد (۲۵/۶٪) MSCNS وجود داشت. در بین ایزوله های استافیلوکوکی، ۵۵/۶ درصد حساس به کلیندامایسین، ۳۷/۵ درصد مقاومت بنیادی و ۵/۲ درصد مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین داشتند.

بیشترین تعداد باکتری های حساس در سویه های MSSA (۸۷/۳٪) و MSCNS (۷۴/۶٪) قرار داشتند. بیشترین تعداد باکتری های با مقاومت بنیادی در سویه های MRSA (۶۳/۳٪) و MRCNS (۷۰٪) قرار داشتند. بیشترین تعداد باکتری های با مقاومت القایی در سویه های MRSA (۱۳/۴٪) و سپس در سویه های MSCNS (۳/۴٪) قرار داشتند (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: فراوانی حساسیت به اریترومایسین و کلیندامایسین در بین ایزوله های استافیلوکوکی

فنوتیپ	MRSA(%)	MSSA(%)	MRCNS(%)	MSCNS(%)	جمع کل (٪)
حساس به اریترومایسین، حساس به کلیندامایسین	۱۲ (۲۰)	۶۲ (۸۷/۳)	۱۰ (۲۵)	٤٤ (۷٤/٦)	۱۲۸(٥٥/٦)
مقاوم به اریترومایسین، مقاوم به کلیندامایسین	۳۸ (٦۳/۳)	۸ (۱۱/۳)	۲۸ (۷۰)	۱۲ (۲۰/۳)	۸٦ (۳۷/٥)
مقاوم به اریترومایسین، حساس به کلیندامایسین – D	۲ (۳/۳)	۰ (۰)	۱ (۲/٥)	۱ (۱/۷)	٤ (۱/۷)
مقاوم به اریترومایسین، حساس به کلیندامایسین +D	۸ (۱۳/٤)	۱ (۱/٤)	۱ (۲/٥)	۲ (۳/٤)	۱۲ (٥/۲)
جمع	٦۰ (۲٦/۱)	۷۱ (۳۰/۹)	٤۰ (۱۷/٤)	٥۹ (۲٥/٦)	۲۳۰

MRSA: استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین، MSSA: استافیلوکوک اورئوس حساس به متی سیلین، MRCNS: استافیلوکوک کواگولاز منفی مقاوم به متی سیلین، MSCNS: استافیلوکوک کواگولاز منفی حساس مقاوم به متی سیلین، +D: تست D مثبت، -D: تست D منفی

در ایزوله های استافیلوکوک مقاوم به متی سیلین (سویه های MRSA و MRCNS)، میزان مقاومت بنیادی به کلیندامایسین ۶۶ درصد و میزان مقاومت القایی ۹ درصد می باشد، در صورتی که در ایزوله های استافیلوکوک حساس به متی سیلین (سویه های MSSA و MSCNS)، میزان مقاومت بنیادی به کلیندامایسین ۱۵/۴ درصد و میزان مقاومت القایی ۲/۳ درصد می باشد. نتایج مزبور تحت آزمون های آماری فیشر و کای اسکوئر قرار گرفتند و مشخص شد میزان مقاومت القایی در استافیلوکوک های مقاوم به متی سیلین ۴/۲ برابر نسبت به سویه های حساس به متی سیلین می باشد [OR= ۴/۲, CI_{95} (۱/۱–۱۵/۹)] (P<۰/۰۵). همچنین

www.SID.ir

Archive OF SID

جدول شماره ۲: مقایسه حساسیت به اریترومایسین و کلیندامایسین در *استافیلوکوک اورئوس* و *استافیلوکوک کواگولاز منفی*

فنوتیپ	(%) S. aureus	(%)CNS
حساس به اریترومایسین، حساس به کلیندامایسین	۷٤ (٥٦/٥)	٥٤ (٥٤/٥)
مقاوم به اریترومایسین، مقاوم به کلیندامایسین	٤٦ (٣٥/٢)	٤٠ (٤٠/٥)
مقاوم به اریترومایسین، حساس به کلیندامایسین D-	۲ (۱/٥)	۲ (۲/۰)
مقاوم به اریترومایسین، حساس به کلیندامایسین D+	۹(٦/٨)	۳ (۳/۰)
جمع	۱۳۱	۹۹

S. aureus: *استافیلوکوک اورئوس*
CNS: *استافیلوکوک کواگولاز منفی*

با این آزمون ها، میزان مقاومت القایی در سویه های MRSA نسبت به MSSA ۱۰/۸ برابر برآورد شد [OR=۴/۲, CI_{95} (۱/۳–۸۸/۸)] (P<۰/۰۰۱).

از ۲۳۰ ایزوله استافیلوکوک، ۱۶ مورد (۷٪) دارای فنوتیپ مقاومت به اریترومایسین و حساس به کلیندامایسین (ER-R CL-S) بودند (۱۱ *استافیلوکوکوس اورئوس* و ۵ *استافیلوکوک کواگولاز* منفی). بر روی سویه های مزبور تست D انجام گرفت. ۹ مورد از ۱۱ سویهٔ *استافیلوکوکوس اورئوس* (۸۱/۸٪) و ۳ مورد از ۵ سویه *استافیلوکوک کواگولاز* منفی (۶۰٪) با فنوتیپ ER-R CL-S، اطراف دیسک کلیندامایسین هالهٔ عدم رشد به شکل D را نشان دادند. این ارگانیسم ها دارای مقاومت القایی به کلیندامایسین ارزیابی شدند (جدول شماره ۲).

بحث:

مصرف گستردهٔ وانکومایسین برای درمان سویه های MRSA می تواند خطر ایجاد سویه های مقاوم به آن را افزایش دهد. بنابراین پیدا کردن آلترناتیو وانکومایسین از ضروریات است (۴). کلیندامایسین از گروه آنتی بیوتیکی MLSB، برای درمان عفونت های جدی استافیلوکوکی در بافت های نرم، مورد توجه واقع شده است (۱۹). ما نیز در این تحقیق کلیندامایسین را به عنوان یک آلترناتیو مناسب مورد بررسی قرار دادیم. در سال ۱۹۶۹، McGehee و همکاران گسترش مقاومت به کلیندامایسین را در بدن (in vivo) و در آزمایشگاه (in vitro) در استافیلوکوک های مقاوم به اریترومایسین گزارش دادند (۲۰). در این تحقیق، از بین ۲۳۰ ایزولهٔ استافیلوکوکی، ۵۵/۶ درصد حساس به کلیندامایسین، ۳۷/۴ درصد مقاومت بنیادی و ۵/۲ درصد مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین داشتند. در مطالعه ای در سال ۱۳۸۶ از بین ۱۲۸ ایزوله استافیلوکوک، ۶ ایزوله (۴/۷٪) تست D مثبت داشتند (۱۳). در مطالعه ای دیگر در سال ۱۹۸۷ از بین ۳۳۲ نمونه استافیلوکوک ۳۸ ایزوله (۱۱/۵٪) دارای مقاومت القایی بودند (۱۴). در مطالعه ما میزان مقاومت القایی در *S. aureus* نسبت به CNS بیشتر مشاهده شد، و بیشترین تعداد باکتری ها با مقاومت القایی در سویه های MRSA (۱۳/۴٪) و سپس در سویه های MSCNS (۳/۴٪) قرار داشتند. در صورتی که در برخی مطالعات این میزان در استافیلوکوک های کواگولاز منفی بیشتر بود (۲۱،۱۳،۸،۴).

در مطالعه ما میزان فنوتیپ القایی کلیندامایسین در بین ایزوله های MRSA، ۱۳/۴ درصد، در بین ایزوله های MSSA ۱/۴ درصد، در MRCNS ۲/۵ درصد و در MSCNS ۳/۴ درصد بوده است. در مطالعه ای که توسط Yilmaz و همکاران انجام شده،

www.SID.ir

Archive OF SID

میزان شیوع مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین در بین ایزوله های MRSA، ۲۴/۴ درصد و در بین ایزوله های MSSA ۱۴/۸ درصد، در MRCNS ۲۵/۷ درصد و در MSCNS ۱۹/۹ درصد بوده است (۴). در تحقیق ما میزان مقاومت بنیادی و القایی به کلیندامایسین در ایزوله های استافیلوکوک مقاوم به متی سیلین (مجموع سویه های MRSA و MRCNS)، به ترتیب ۶۶ درصد و ۹ درصد و میزان مقاومت بنیادی و القایی به ایزوله های استافیلوکوک حساس به متی سیلین (مجموع سویه های MSSA و MSCNS)، به ترتیب ۱۵/۴ درصد و ۲/۳ درصد بود. آزمون های آماری نشان دادند که میزان مقاومت القایی در استافیلوکوک های مقاوم به متی سیلین ۴/۲ برابر نسبت به سویه های حساس بودند همچنین میزان مقاومت القایی در سویه های MRSA نسبت به سویه های MSSA، ۱۰/۸ برابر بیشتر بود، در مطالعه Yilmaz میزان مقاومت القایی در سویه های MRSA نسبت به سویه های MSSA، حدود ۱/۷ برابر بیشتر بود (۴).

مقایسهٔ داده های بدست آمده از تحقیقات مختلف این واقعیت را نشان می دهند که فراوانی سویه های با فنوتیپ مقاومت القایی MLSBi در نقاط مختلف جغرافیایی و حتی نقاط مختلف یک شهر (۱۲) با یکدیگر تفاوت می کنند. این تنوع می تواند ناشی از دخالت ژن های گوناگون و یا ترکیبات ژنی مختلف در ایجاد این نوع مقاومت باشد (۲۲). تشابهی که بین داده های حاصل از این مطالعات وجود دارد، گستردگی مقاومت القایی در بین سویه های استافیلوکوک مقاوم به متی سیلین و بالاخص سویه های *S. aureus* مقاوم به متی سیلین (MRSA) است. اگر این نظر به لحاظ آزمون های آماری معنی دار باشد، شاید در انتقال و جابجایی ژن های مزبور هماهنگی و ارتباطاتی وجود داشته باشد که موضوع نیازمند به تحقیقات بیشتری است. در این مطالعه ۱۱ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* و ۵ ایزوله *استافیلوکوک کواگولاز* منفی دارای فنوتیپ مقاوم به اریترومایسین و حساس به کلیندامایسین بودند (ER-R, CL-S). ولیکن هالهٔ D شکل در اطراف دیسک کلیندامایسین مربوط به ۹ ایزولهٔ *استافیلوکوکوس اورئوس* (۸۱/۸٪) و ۳ ایزولهٔ *استافیلوکوک کواگولاز* منفی (۶۰٪) بوجود آمد. در مجموع ۷۵ درصد ایزوله های استافیلوکوکی مقاوم به اریترومایسین و حساس به کلیندامایسین مقاومت القایی را نشان دادند. در سال ۲۰۰۳ در نیویورک گزارش شده که ۸۰ درصد از *S. aureus* و ۶۳ درصد از ایزوله های CNS با فنوتیپ ER-R, CL-S، دارای مقاومت القایی هستند (۲۳). در سال ۲۰۰۴ طی تحقیقی در دو بیمارستان، یکی در مرکز شهر و دیگری در حومه شهر Illinois آمریکا، به این نتیجه رسیدند که فراوانی سویه های مقاومت القایی در دو نقطهٔ شهر تفاوت می کنند ولیکن در مجموع ۸۹ درصد از سویه های *S. aureus* و ۵۰ درصد از ایزوله های CNS با فنوتیپ ER-R, CL-S، مقاومت القایی را نشان دادند (۱۲). در مطالعه ای در ترکیه گزارش شد که ۷۰/۹ درصد از ایزوله های استافیلوکوک (۸۱/۸٪ از ایزوله های *S. aureus* و ۶۳/۳٪ از CNS) با فنوتیپ ER-R, CL-S، فنوتیپ القایی را نشان دادند (۴). تحقیق ما نظیر سایر مطالعات نشان می دهند که حدود ۸۰ درصد از سویه های *S. aureus* و ۶۰ درصد از سویه های *استافیلوکوک کواگولاز* منفی با فنوتیپ ER-R, CL-S نسبت به کلیندامایسین دارای مقاومت القایی هستند یعنی سویهٔ MLSBi می باشند و لذا برای جلوگیری از شکست در درمان (۲۴)، باید آنها را بنا بر توصیهٔ NCCLS، سویه های مقاوم به کلیندامایسین فرض کرد (۱۸).

نتیجه گیری:

بر اساس نتایج این مطالعه تعیین مقاومت القایی در تمام سویه های استافیلوکوک مقاوم به متی سیلین و همچنین سویه های استافیلوکوک با فنوتیپ مقاوم به اریترومایسین، حساس به کلیندامایسین توسط تست D ضروری می باشد. لذا پیشنهاد می شود که تست D برای

www.SID.ir

Archive OF SID

کلیهٔ سویه های استافیلوکوک مقاوم به متی سیلین خصوصاً سویه های با فنوتیپ مقاوم به اریترومایسین، حساس به کلیندامایسین انجـــام شود. این امـــر باید بدون توجه به نوع نمونـهٔ کلینیکی و یا منطقهٔ جغرافیایی بیمار صورت گیرد و بهتر است تست مزبور جـــزو لیست تســـت های روتیـــن یک آزمـــایشـــگاه تشخیص طبی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی:

این طرح با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شده است بدینوسیله تشکر و قدردانی می شود.

منابع:

1. Naimi TS, LeDell KH, Boxrud DJ, Groom AV, Steward CD, Johnson SK. Epidemiology and clonality of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Minnesota. 1996-1998. Clin Infect Dis. 2001; 33(7): 990-6.

2. Nafisi MR, Kalhor H, Zamanzad B, Karimi A, Farokhi E, Validi M. [Comparison of agar screen and duplex-PCR in determination of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated from nose of personnel in Hajar hospital of Shahre-kord. J Arak Univ Med Sci. 2008; 11(2): 94-101.]Persian

3. Frank AL, Marcinak JF, Mangat PD, Tjhio JT, Kelkar S, Schreckenberger PC, et al. Clindamycin treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in children. Pediatr Infect Dis J. 2002; 21(6): 530-4.

4. Yilmaz G, Aydin K, Iskender S, Caylan R, Koksal I. Detection and prevalence of inducible clindamycin resistance in staphylococci. J Med Microbiol. 2007; 56(3): 342-5.

5. LaPlante KL, Leonard SN, Andes DR, Craig WA, Rybak MJ. Activities of clindamycin, daptomycin, doxycycline, linezolid, trimethoprim-sulfamethoxazole, and vancomycin against community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with inducible clindamycin resistance in murine thigh infection and in vitro pharmacodynamic models. Antimicrob Agents Chemother. 2008; 52(6): 2156-62.

6. Giordano P, Weber K, Gesin G, Kubert J. Skin and skin structure infections: treatment with newer generation fluoroquinolones. Ther Clin Risk Manag. 2007; 3(2): 309-17.

7. Drinkovic D, Fuller ER, Shore KP, Holland DJ, Ellis-Pegler R. Clindamycin treatment of *Staphylococcus aureus* expressing inducible clindamycin resistance. J Antimicrob Chemother. 2001; 48(2): 315-6

8. Fiebelkorn KR, Crawford SA, McElmeel ML, Jorgensen JH. 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

9. Chheng K, Tarquinio S, Wuthiekanun V, Sin L, Thaipadungpanit J, Amornchai P, et al. Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with pediatric infection in Cambodia. PLoS One. 2009; 4(8): e6630.

10. Kasten MJ. Clindamycin, metronidazole, and chloramphenicol. Mayo Clin Proc. 1999 Aug; 74(8): 825-33.

11. Merino-Díaz L, Cantos de la Casa A, Torres-Sánchez MJ, Aznar-Martín J. Detection of inducible resistance to clindamycin in cutaneous isolates of *Staphylococcus spp.* by phenotypic and genotypic methods. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2007; 25(2): 77-81.

12. 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 Jun; 42(6): 2777-9.

www.SID.ir

Archive OF SID

13. Naderi Nasab M, Farshadzade Z, Yosefi F, Sasacn MS. [determination of inducible resistance to clindomycin in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci. Iran J Microbiol. 2008; 1: 25-30.]Persian

14. Jenssen WD, Thakker-Varia S, Dubin DT, Weinstein MP. Prevalence of macrolides-lincosamides -Streptogramin B resistance and erm gene classes among clinical strains of Staphylococci and Streptococci. Antimicrob Agents Chemother. 1987; 31(6): 883-8.

15. Młynarczyk G, Młynarczyk A, Szymanek K, Bilewska A, Luczak M. The correlation between phenotypes and genotypes of macrolides, lincosamides and streptogramins B resistance in *Staphylococcus aureus*. Med Dosw Mikrobiol. 2007; 59(1): 17-25.

16. Werckenthin C, Schwarz S, Westh H. Structural alterations in the translational attenuator of constitutively expressed ermC genes. Antimicrob Agents Chemother. 1999; 43(7): 1681-5.

17. Weisblum B, Demohn V. Erythromycin-inducible resistance in *Staphylococcus aureus*: survey of antibiotic classes involved. J Bacteriol. 1969; 98(2): 447-52.

18. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests approved standard M2-A8. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003.

19. Rao GG. Should clindamycin be used in treatment of patients with infections caused by erythromycin-resistant staphylococci? J Antimicrob Chemother. 2000; 45(5): 715.

20. Chelae S, Laohaprertthisarn V, Phengmak M, Kongmuang U, Kalnauwakul S. Detection of inducible clindamycin resistance in staphylococci by disk diffusion induction test. J Med Assoc Thai. 2009 Jul; 92(7): 947-51.

21. Van der Heijden IM, Sinto S, Oplustil C, Mendes C. In abstracts of the 101st general meeting of the American society for microbiology 2001. Washington, DC: Am Societ for Microbiol; 2001. p: 86.

22. Gul HC, Kilic A, Guclu AU, Bedir O, Orhon M, Basustaoglu AC. Macrolide-lincosamide-streptogramin B resistant phenotypes and genotypes for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Turkey, from 2003 to 2006. Pol J Microbiol. 2008; 57(4): 307-12.

23. Van Horn KG, Toth C. In abstracts of the 103rd general meeting of the American Society for Microbiology 2003, abstract C–074. Washington, DC: American Society for Microbiology.

24. 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.

www.SID.ir

Archive OF SID

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences

Received:20/June/2009 *Accepted: 8/Dec/2009*

Prevalence of constitutive and inducible resistance to clindamycin in staphylococci isolates from Hajar and Kashani hospitals in Shahrekord, 2008

Nafisi MR (PhD)*[1], Shariati L (MSc)**, Validi M (MSc)**, Karimi A (PhD)***,

**Assistant professor, Microbiology Dept., Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord Univ. of Med. Sci. Shahrekord, Iran, **Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord Univ. of Med. Sci. Shahrekord, Iran, ***Associated professor, Virologist, Medical plants Research Center, Shahrekord Univ. of Med. Sci. Shahrekord, Iran.*

Background and aim: Resistance to clindamycin (CL) in *Staphylococcus aureus* is both constitutive and inducible. In the present study, the prevalence of the constitutive and inducible resistance to CL was investigated by disk diffusion and double-disk diffusion (D-test) methods.

Methods: This descriptive-analytical study was performed on 230 Staphylococcus isolates. D-test was carried out for all the isolates with resistant phenotype for erythromycin and susceptible phenotype for CL. 15µg erythromycin and 2 µg CL disks were placed on plate at a distance of 15 mm. The appearance of D-shaped zones around the strains was checked after proper incubation.

Results: Of the 230 staphylococcus isolates, 55.6% were susceptible to CL, 37.5% had constitutive and 5.2% had inducible resistance to CL. The frequencies of constitutive and inducible resistance for CL in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates were 66% and 9%, respectively and the frequencies of constitutive and inducible resistance for CL in methicillin-susceptible isolates (MSSA) were 15.4% and 2.3%, respectively. Statistical tests revealed the inducible resistance in MRS isolates to be 4.2 times more frequent than that in MSS isolates. The inducible resistance frequency was 10.8- fold in MRSA compared to MSSA isolates.

Conclusion: The study results showed that the inducible resistance should be determined by D- test in all methicillin-resistant staphylococcus isolates and also staphylococcus strains resistant to erythromycin and susceptible to CL.

Keywords: **Clindamycin, Constitutive resistance, Erythromycin, *Staphylococcus*, Inducible resistance.**

[1]***Corresponding author:***
Cellular and Molecular Research Center, Medical Faculty, Rahmatieah Shahrekord, Iran.
Tel:
0381-3346732
E-mail:
mrnafisi@yahoo.com

www.SID.ir