اهمیت مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین در ایزوله‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس واجد ژن انتروتوکسین

مجتبی معماریانی، محمدرضا پورمند،* محمدحسن شیرازی، محمدمهدی سلطان دلال، زهرا عبدالصمدی، نادیا مردانی

گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۱۲/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۰۱/۱۶

چکیده

زمینه و هدف: کلیندامایسین، آنتی‌بیوتیکی مناسب جهت درمان عفونت‌های استافیلوکوکسی به‌ویژه عفونت‌های پوستی و بافت نرم است. همچنین این آنتی‌بیوتیک می‌تواند تولید توکسین در بسیاری از باکتری‌ها را متوقف سازد. مقاومت به کلیندامایسین از طریق دو مکانیسم ساختاری و القایی امکان‌پذیر است. مقاومت ساختاری را می‌توان با استفاده از روش‌های معمول دیسک دیفیوژن تشخیص داد اما برای شناسایی مقاومت القایی، باید از تست D استفاده کرد. هدف اصلی این مطالعه، تعیین میزان شیوع مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین در ایزوله‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی‌سیلین است. به‌علاوه ویژگی دارا بودن ژن انتروتوکسین A در پاتوژن مذکور مورد نظر قرار گرفته است. ***روش بررسی:*** در مجموع، ۸۷ ایزوله بالینی استافیلوکوکوس اورئوس، مورد مطالعه قرار گرفت. ایزوله‌ها با استفاده از تست D بر اساس دستورالعمل CLSI، مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای شناسایی ژن انتروتوکسین A(sea)، از روش PCR استفاده شد. ***یافته‌ها:*** از مجموع ۸۷ ایزوله بالینی، ۱۸ مورد (۲۰/۷٪) دارای مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین بودند. با توجه به تحلیل آماری و با اطمینان ۹۵٪، میزان مقاومت القایی در ایزوله‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس بین ۲۹/۲ و ۱۲/۲ درصد به دست آمد. همچنین مقاومت ساختاری نسبت به کلیندامایسین در ۲۱ ایزوله (۲۴/۱٪) دیده شد. میزان شیوع مقاومت القایی در ایزوله‌های MRSA و MSSA به ترتیب برابر با ۳۳/۳٪ و ۵/۱٪ بود. تفاوت معنی‌داری از نظر آماری بین میزان شیوع مقاومت القایی و نوع عفونت دیده شد (p=۰/۰۴۵). همچنین بین ژن sea و نوع مقاومت به کلیندامایسین (القایی یا ساختاری) از نظر آماری ارتباط معنی‌داری دیده شد (p<۰/۰۰۰۱). ***نتیجه‌گیری:*** از آنجایی که میزان شیوع مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین در ایزوله‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس بالا می‌باشد، لذا استفاده از تست D جهت جلوگیری از شکست در درمان بیماران شدیداً توصیه می‌گردد. ضمنا توجه به فاکتورهای بیماری‌زایی و ارتباط آن با مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی باید مورد توجه جدی قرارگیرد.

کلمات کلیدی: کلیندامایسین، مقاومت القایی، استافیلوکوکوس اورئوس، انتروتوکسین

*نویسنده مسئول، تهران، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران تلفن: ۸۸۹۵۴۹۱۰
email: mpourmand@tums.ac.ir

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس *S. aureus* عامل طیف وسیعی از بیماری‌ها به‌شمار می‌رود و پی آیند مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن، موجب توجه هر چه بیشتر به تنوع این گونه مقاومت‌ها گردیده است. در این میان، کلیندامایسین، آنتی‌بیوتیکی مناسب در درمان عفونت‌های استافیلوکوکی به‌ویژه عفونت‌های پوستی و بافت نرم است زیرا نفوذ خوبی در بیشتر بافت‌ها دارد. همچنین در افراد حساس به پنی‌سیلین، کلیندامایسین جایگزین مناسبی برای درمان عفونت‌های ناشی از کوکسی‌های گرم مثبت می‌باشد.[۱و۲] یکی دیگر از مزایای این آنتی‌بیوتیک، توانایی آن در توقف سنتز انواع توکسین‌های باکتریایی (ویژگی آنتی‌توکسیک) است.[۳-۵] استافیلوکوکوس اورئوس می‌تواند انواع مختلفی از توکسین‌ها مانند انتروتوکسین‌ها را تولید کند. انتروتوکسین‌ها به دلیل داشتن ویژگی‌های سوپر آنتی‌ژنی، نقش مهمی در بیماری‌زایی دارند.[۶و۷] بنابراین توانایی کلیندامایسین در متوقف ساختن سنتز توکسین‌ها، مزیتی مهم در درمان عفونت‌های ناشی از ایزوله‌های انتروتوکسیژنیک استافیلوکوکوس اورئوس محسوب

می‌گردد.[۸-۱۰] امروزه تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های بالینی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به‌طور کلی دو نوع مکانیسم مقاومت ساختاری و القایی در رابطه با کلیندامایسین در استافیلوکوکوس‌ها مطرح می‌باشد. استافیلوکوکوس‌های دارای ژن msrA، نوعی پمپ افلاکس را کد می‌نمایند که موجب ایجاد مقاومت ساختاری نسبت به اریترومایسین و حساسیت نسبت به کلیندامایسین خواهد شد. به ایزوله‌های دارای ژن msrA، اصطلاحاً ایزوله‌های MS (فنوتیپ N) می‌گویند.[۱۱] ژن‌های erm، دسته‌ای دیگر از ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی هستند که می‌توانند بر روی پلاسمیدها یا ترانسپوزون‌ها حمل شوند. این ژن‌ها، نوعی آنزیم rRNA متیلاز را کد می‌نمایند که می‌تواند محل اتصال دارو را بر روی ۲۳S rRNA ریبوزومی تغییر دهد. ایزوله‌هایی که ژن‌های erm را حمل می‌نمایند به یکی از دو شکل القایی یا ساختاری، آنزیم rRNA متیلاز را بیان می‌کنند. بیان القایی آنزیم متیلاز، در حضور یک القاءگر مانند ماکرولیدها (مثل اریترومایسین) انجام می‌گیرد. به سویه‌هایی که به‌طور القایی ژن‌های erm را بیان می‌کنند، MLSBi (فنوتیپ D) می‌گویند. ایزوله‌های فوق در شرایط آزمایشگاهی به اریترومایسین مقاوم و به کلیندامایسین حساس هستند اما در حضور ماکرولیدها (مثل اریترومایسین)، نسبت به کلیندامایسین مقاوم خواهند شد. سویه‌هایی که به‌طور ساختاری ژن erm را بیان می‌کنند، همیشه آنزیم متیلاز را کد می‌نمایند. بنابراین در هر حالت، به اریترومایسین و کلیندامایسین مقاوم خواهند بود. به ایزوله‌های فوق، اصطلاحاً MLSBc (فنوتیپ R) می‌گویند.[۱۲و۱۳] مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین را نمی‌توان با استفاده از روش‌های آنتی‌بیوگرام معمول تشخیص داد. این احتمال وجود دارد که ایزوله‌های MLSBi (ایزوله‌های دارای مقاومت القایی) در مدت زمان درمان، دچار موتاسیون شده و تبدیل به MLSBc (ایزوله‌های دارای مقاومت ساختاری) شوند و بنابراین دیگر به درمان پاسخ ندهند. بنابراین تشخیص دقیق نوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی، بسیار حائز اهمیت می‌باشد.[۱۴و۱۵] با توجه به این مهم، NCCLS در سال ۲۰۰۴، نوعی روش دیسک دیفیوژن تغییر یافته (D-test) را به عنوان روشی استاندارد برای تشخیص مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین معرفی نمود.[۱۶] با استفاده از این تست ساده می‌توان از طریق الگوی فنوتیپی به دست آمده، به راحتی نوع مقاومت را تشخیص داد. از آنجایی‌که تحقیقات اندکی در مورد مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین در کشورمان انجام گرفته است، تعیین فراوانی ایزوله‌های دارای مقاومت القایی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بنابراین، نه تنها با تشخیص این ایزوله‌ها، می‌توان از کاربرد نابجای آنتی‌بیوتیک‌ها در مورد بیماران جلوگیری کرد بلکه از گسترش ایزوله‌های فوق در بیمارستان‌های مختلف نیز جلوگیری خواهیم نمود.

روش بررسی

در این مطالعه که به‌صورت مقطعی از بهار تا پایان تابستان ۱۳۸۷ انجام گرفت، مجموعاً ۸۷ ایزوله بالینی استافیلوکوکوس اورئوس از بیمارستان‌های سینا، شریعتی و مرکز طبی کودکان مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر این، مشخصات بیماران مانند جنس و نوع عفونت نیز ثبت گردید. ایزوله‌های فوق با استفاده از روش‌های معمول تشخیصی و بیوشیمیایی مانند تست تخمیر مانیتول، کاتالاز، کواگولاز و DNase مورد تایید قرار گرفتند. تعیین حساسیت به متی‌سیلین با استفاده از دیسک ۱μg اگزاسیلین (شرکت Mast diagnostic England) بر روی محیط مولر هینتون آگار دارای ۲٪ NaCl و انکوباسیون آن در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۲۴ ساعت انجام پذیرفت. برای شناسایی مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین، از هر یک از ایزوله‌ها، غلظت ۰/۵ مک فارلند تهیه شد. سپس با استفاده از سوآب استریل، رقت‌های تهیه شده بر روی محیط‌های مولر هینتون آگار کشت داده شدند. بر روی هر پلیت، دیسک کلیندامایسین (۲μg) در فاصله ۲۰ میلی‌متری از دیسک اریترومایسین (۱۵μg) قرار داده شد. ایجاد منطقه مهاری در اطراف دیسک کلیندامایسین، به شکل حرف D به‌طوری‌که سطح مسطح آن رو به اریترومایسین باشد، بیانگر مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین می‌باشد (شکل ۱). این ایزوله‌ها را اصطلاحاً ایزوله‌های دارای فنوتیپ D (MLSBi) می‌نامند.

برای بررسی حضور ژن sea (انتروتوکسین A)، ژنوم باکتری‌ها با استفاده از کیت Bioneer (South Korea) استخراج گردید. از یک جفت پرایمر اختصاصی ژن sea، جهت واکنش PCR استفاده شد:[۱۷]

SEA-F : 5'-TTG CGT AAA AAG TCT GAA TT-3'
SEA-R : 5'-ATT AAC CGA AGG TTC TGT AGA-3'

سپس واکنش PCR با استفاده از کیت (QIAGEN, Germany) HotStarTaq Master Mix طبق دستورالعمل کیت انجام پذیرفت. سیکل دمایی PCR در دستگاه ترموسایکلر با دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه به مدت پنج دقیقه آغاز شد. سپس ۳۰ سیکل از

دناتوراسیون اصلی در دمای ۹۴ درجه به مدت ۱ دقیقه، اتصال (annealing) در دمای ۵۵ درجه به مدت یک دقیقه و تکثیر (extension) در دمای ۷۲ درجه به مدت یک دقیقه انجام پذیرفت. نهایتاً تکثیر نهایی (final extension) در دمای ۷۲ درجه به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. محصول واکنش، بر روی ژل آگارز ۱٪ الکتروفورز شد و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید، باندهای DNA توسط دستگاه UV Trans illuminator مشاهده گردید. همزمان از ژنوم استخراج شده از ایزوله ATCC 25923 به عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر استریل به عنوان کنترل منفی استفاده شد. در پایان، آزمون آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویراست هفدهم و روش χ^2 و Fisher's exact test انجام گرفت و در تمامی موارد، p<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

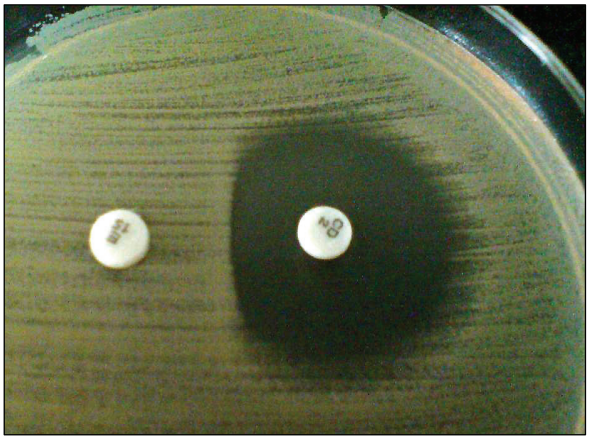
یافته‌ها

در این مطالعه در مجموع ۸۷ ایزوله بالینی استافیلوکوکوس اورئوس (۳۰ نمونه از مرکز طبی کودکان، ۳۱ نمونه از بیمارستان شریعتی و ۲۶ نمونه از بیمارستان سینا) مورد بررسی قرار گرفت. این تعداد شامل ۳۷ نمونه از زخم، ۱۶ نمونه ادراری، ۱۶ نمونه از عفونت‌های ریوی و ۱۸ نمونه از خون بود. ۶۴(۷۳/۶٪) ایزوله مربوط به مردان و ۲۳(۲۶/۴٪) ایزوله نیز از زنان جدا شده بود. ۵۵/۲٪ از ایزوله‌ها به اگزاسیلین مقاوم (MRSA) و ۴۴/۸٪ نیز به آن حساس (MSSA) بودند. از ۴۸ ایزوله MRSA، ۱۲ ایزوله Community- CA-associated MRSA و ۳۶ ایزوله Health care-associated MRSA HA- بودند. عفونت هایی که پس از گذشت ۴۸ ساعت از پذیرش بیمار در بیمارستان کسب شدند به عنوان HA-MRSA در نظر گرفته شد. این بیماران در بخش‌های مراقبت ویژه، دیالیز یا جراحی بودند و از کاتتر و سایر وسایل تهاجمی در آن‌ها استفاده شده بود. نتایج تست D نشان داد که ۱۸(۲۰/۷٪) ایزوله دارای فنوتیپ D (مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین) بودند. با توجه به تحلیل آماری و با اطمینان ۹۵٪، میزان مقاومت القایی در ایزوله‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس بین ۲۹/۲ و ۱۲/۲ درصد به دست آمد. همچنین ۳۶(۴۱/۴٪) ایزوله به هر دو نوع آنتی‌بیوتیک اریترومایسین و کلیندامایسین حساس بودند (فنوتیپ S). فنوتیپ R در ۲۱(۲۴/۱٪) ایزوله دیده شد. ۱۲(۱۳/۸٪) ایزوله نیز به اریترومایسین مقاوم و به کلیندامایسین حساس بودند (فنوتیپ N). همچنین نتایج حاصل از PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن sea نشان داد که ۴۳(۴۹/۴٪) ایزوله دارای ژن sea

جدول- ۱: بررسی ارتباط بین توزیع فراوانی فنوتیپ‌های مختلف به دست آمده از تست D و سایر متغیرها با استفاده از آزمون آماری χ^2 و یا Fisher test

متغیر	فنوتیپ S n=۳۶	فنوتیپ R n=۲۱	فنوتیپ N n=۱۲	فنوتیپ D n=۱۸	p*
نوع ایزوله					<۰/۰۰۰۱
MRSA 48	۱(٪۲)	۲۱(٪۴۳/۸)	۱۰(٪۲۰/۸)	۱۶(٪۳۳/۳)	
MSSA 39	۳۵(٪۸۹/۸)	۰(٪۰)	۲(٪۵/۱)	۲(٪۵/۱)	
جنس					۰/۰۱۷
۶۴ مرد	۲۱(٪۳۲/۸)	۲۰(٪۳۱/۲)	۹(٪۱۴)	۱۴(٪۲۱/۹)	
۲۳ زن	۱۵(٪۶۵/۲)	۱(٪۴/۳)	۳(٪۱۳)	۴(٪۱۷/۴)	
نوع عفونت					۰/۰۴۵
۳۷ زخم	۱۷(٪۴۶)	۱۰(٪۲۷)	۴(٪۱۰/۸)	۶(٪۱۶/۲)	
۱۸ خونی	۱۲(٪۶۶/۷)	۲(٪۱۱/۱)	۱(٪۵/۵)	۳(٪۱۶/۷)	
۱۶ ریوی	۴(٪۲۵)	۷(٪۴۳/۷)	۲(٪۱۲/۵)	۳(٪۱۸/۸)	
۱۶ ادراری	۳(٪۱۸/۸)	۲(۱۲/۵)	۵(٪۳۱/۲)	۶(٪۳۷/۵)	
ژن sea					<۰/۰۰۰۱
۴۳ مثبت	۵(٪۱۱/۶)	۱۸(٪۴۱/۹)	۹(٪۲۰/۹)	۱۱(٪۲۵/۶)	
۴۴ منفی	۳۱(٪۷۰/۵)	۳(٪۶/۸)	۳(٪۶/۸)	۷(٪۱۵/۹)	

*تست χ^2 یا Fisher برای انتشار فنوتایپ در گروه‌های مورد مطالعه به کار رفته است، p<۰/۰۵ معنی‌دار است.



شکل- ۱: ایجاد پدیده مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین (فنوتیپ D).

بودند. از آنجایی که ایزوله‌های MRSA به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می‌باشند، این سوال برای ما پیش آمد که آیا تفاوت معنی‌داری در میزان توزیع فراوانی فنوتیپ‌های چهارگانه در دو گروه MRSA و MSSA وجود دارد؟ نتایج آماری نشان می‌دهد که ارتباط بسیار معنی‌داری بین میزان توزیع فراوانی فنوتیپ‌های چهارگانه در ایزوله‌های MRSA و MSSA وجود دارد (p<۰/۰۰۰۱). همچنین ارتباط معنی‌داری بین فنوتیپ‌های فوق و جنسیت افراد دیده شد (p=۰/۰۱۷). در مرحله بعد، این سوال مطرح شد که آیا توزیع فنوتیپ‌های فوق بر اساس جایگاه عفونت متفاوت است؟ نتایج آماری نشان دادند که اختلاف نسبتاً معنی‌داری دیده می‌شود (p=۰/۰۴۵). همچنین از آنجایی که کلیندامایسین به عنوان یک آنتی‌بیوتیک آنتی‌توکسین مطرح می‌باشد، بررسی میزان مقاومت نسبت به کلیندامایسین در ایزوله‌های انتروتوکسیژنیک بسیار حائز اهمیت می‌باشد. میزان مقاومت در سویه‌های تولیدکننده انتروتوکسین، به مراتب بالاتر از ایزوله‌های فاقد آن (p<۰/۰۰۰۱) بود (جدول ۱).

بحث

استفاده از تست D برای شناسایی ایزوله‌های دارای مقاومت القایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است زیرا این نوع از مقاومت می‌تواند منجر به شکست در درمان شود. بنابراین شناسایی دقیق این ایزوله‌ها می‌تواند پزشکان را در درمان مناسب عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس یاری دهد.[۱۸و۱۹] Janapatla در تایوان، در مطالعه‌ای چندین ساله بر روی ۱۴۳۸ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از موارد باکتریمی، تعداد موارد دارای مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین (MLSBi) را در ایزوله‌های حساس و مقاوم به اگزاسیلین با هم مقایسه کردند. از ۷۲۹ ایزوله حساس به اگزاسیلین (MSSA)، ۵۵(۸٪) ایزوله دارای مقاومت القایی بودند اما این میزان در ۷۰۹ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به اگزاسیلین (MRSA)، ۲۹(۴٪) مورد بود.[۲۰] در بررسی دیگری در هند (۲۰۰۶) بر روی ایزوله‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA)، میزان شیوع مقاومت القایی ۵/۷٪ گزارش شده است.[۲۱] مطالعات Fokas (۲۰۰۵) در یونان بر روی ۴۵ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به اریترومایسین نشان داد که ۶۰٪ از آنها دارای مقاومت ساختاری (MLSBc) بودند اما مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین (MLSBi)، ۳۵٪ بوده است.[۲۲] در بررسی دیگری در ترکیه در شهر آنکارا (۲۰۰۵)، میزان شیوع مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین در ایزوله‌های MRSA و MSSA، به ترتیب ۵/۷٪ و ۳/۶٪ گزارش شد.[۲۳] Delialioglu (۲۰۰۵) نیز با مطالعه بر روی ۲۳۰ ایزوله بالینی استافیلوکوکوس اورئوس، میزان شیوع مقاومت ساختاری و القایی را نسبت به کلیندامایسین به ترتیب ۲۴/۳٪ و ۷/۸٪ گزارش کرد.[۲۴] علاوه بر این، مطالعات Schreckenbergerl در دو بیمارستان در سال ۲۰۰۴ بر روی ایزوله‌های MRSA نشان داد که از ۲۰۳ ایزوله MRSA در بیمارستان اول، ۱۴(۷٪) مورد دارای مقاومت القایی و ۱۷۰(۸۴٪) مورد دارای مقاومت ساختاری بودند. در بیمارستان دوم نیز از ۲۴۹ ایزوله MRSA، ۳۰(۱۲٪) مورد دارای مقاومت القایی و ۲۰۵(۸۳٪) مورد دارای مقاومت ساختاری بودند.[۲۵] مطالعات اندکی در کشورمان در مورد میزان شیوع مقاومت القایی در ایزوله‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس انجام گرفته است. در مطالعه نادری نسب و همکاران (۱۳۸۵) در مشهد بر روی ۳۲ ایزوله بالینی MRSA، فقط یک ایزوله دارای فنوتیپ D(MLSBi) بود.[۱۵] در همین رابطه، بررسی‌های رهبر و همکاران (۲۰۰۷) در تهران بر روی ۱۷۵ ایزوله بالینی در بیمارستان میلاد نشان داد که از ۵۳ ایزوله MRSA، ۴۴/۶٪ دارای مقاومت ساختاری و ۲۲/۶٪ دارای مقاومت القایی بودند. میزان شیوع مقاومت ساختاری و القایی در ۱۲۲ ایزوله MSSA، به ترتیب برابر با ۱/۶٪ و ۴/۰٪ بود.[۲۶] در مطالعه ما نیز از ۴۸ ایزوله MRSA، ۲۱(۴۳/۸٪) مورد دارای مقاومت ساختاری و ۱۶(۳۳/۳٪) مورد دارای مقاومت القایی بودند. میزان شیوع مقاومت ساختاری و القایی در ۳۹

ایزوله MSSA به ترتیب برابر با ۰٪ و ۵/۱٪ (دو ایزوله) بود. مطالعه ما نشان می‌دهد که میزان شیوع مقاومت القایی در ایزوله‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس خصوصاً سویه‌های MRSA، بیشتر از سایر مطالعات می‌باشد. مقاومت به متی‌سیلین بر اثر عناصر متحرکی مانند SCCmec ایجاد می‌شود. این عناصر می‌توانند بسیاری از شاخص‌های مقاومت آنتی‌بیوتیک را به دام اندازند. از این رو به نظر می‌رسد که حداقل برخی از شاخص‌های مقاومت به کلیندامایسین، به راحتی توسط عناصر SCCmec جذب شده است. از سوی دیگر باید فشار انتخابی ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها را نیز مد نظر قرار داد. به هر ترتیب، این موضوع می‌تواند بیانگر زنگ خطری باشد از گسترش ایزوله‌های دارای مقاومت القایی زیرا ایزوله‌های فوق را نمی‌توان با استفاده از تست‌های معمول آزمایشگاهی تشخیص داد، لذا شکست در درمان، امری اجتناب‌ناپذیر خواهد بود.[19] بنابراین استفاده از تست D در تشخیص ایزوله‌های دارای مقاومت القایی کاملاً ضروری به نظر می‌رسد. ضمناً برای اولین بار در این مطالعه نشان داده شد که میزان شیوع مقاومت به کلیندامایسین (مقاومت القایی و ساختاری) در ایزوله‌های دارای ژن sea (انتروتوکسین A)، بسیار بیشتر از ایزوله‌های فاقد این ژن می‌باشد. از آنجایی که برخی از شاخص‌های مقاومت نسبت به کلیندامایسین بر روی عناصر متحرک قرار دارند، این احتمال وجود دارد که آن‌ها توسط فاژهای حامل ژن sea به سایر ایزوله‌ها منتقل شوند. این امر شاید موجب انتقال همزمان ژن sea و شاخص‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی به سایر ایزوله‌ها خواهد شد.[18] به هرحال با توجه به این‌که کلیندامایسین می‌تواند با اتصال به ریبوزوم، سنتز انواع توکسین‌ها را مهار نماید،[10] ایزوله‌های مقاوم به این آنتی‌بیوتیک، هنوز توانایی سنتز توکسین را خواهند داشت. بنابراین، اهمیت این آنتی‌بیوتیک در درمان ایزوله‌های توکسین زای استافیلوکوکوس بیشتر مشخص خواهد شد زیرا شکست در درمان چنین ایزوله‌هایی، تبعات بدتری به دنبال خواهد داشت.

سپاسگزاری: این مقاله بخشی از نتایج طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران به شماره قرارداد ۷۴۲۲ مورخ ۸۷/۶/۲۶ می‌باشد. نویسندگان تشکر خود را از همکاری کارشناسان آزمایشگاه بیمارستان‌های سینا، شریعتی و مرکز طبی کودکان ابراز می‌دارند.

References

1. 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: 4740-4.
2. Marcinak JF, Frank AL. Treatment of community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus in children. *Curr Opin Infect Dis* 2003; 16: 265-9.
3. Rokosz A, Rouyan GS, Meisel-Mikołajczyk F. Production of enterotoxins by Bacteroids fragilis strains: effect of clindamycin. *Med Dosw Mikrobiol* 1997; 49: 153-9.
4. Stevens DL, Maier KA, Mitten JE. Effect of antibiotics on toxin production and viability of Clostridium perfringens. *Antimicrob Agents Chemother* 1987; 31: 213-8.
5. Zimbelman J, Palmer A, Todd J. Improved outcome of clindamycin compared with beta-lactam antibiotic treatment for invasive Streptococcus pyogenes infection. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18: 1096-100.
6. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of Staphylococcus aureus. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 16-34.
7. Bohach GA, Fast DJ, Nelson RD, Schlievert PM. Staphylococcal and streptococcal pyrogenic toxins involved in toxic shock syndrome and related illnesses. *Crit Rev Microbiol* 1990; 17: 251-72.
8. Schlievert PM, Kelly JA. Clindamycin-induced suppression of toxic-shock syndrome--associated exotoxin production. *J Infect Dis* 1984; 149: 471.
9. Ohlsen K, Ziebuhr W, Koller KP, Hell W, Wichelhaus TA, Hacker J. Effects of subinhibitory concentrations of antibiotics on alpha-toxin (hla) gene expression of methicillin-sensitive and methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 2817-23.
10. Azeh I, Gerber J, Wellmer A, Wellhausen M, Koenig B, Eiffert H, et al. Protein synthesis inhibiting clindamycin improves outcome in a mouse model of Staphylococcus aureus sepsis compared with the cell wall active ceftriaxone. *Crit Care Med* 2002; 30: 1560-4.
11. Eady EA, Ross JI, Tipper JL, Walters CE, Cove JH, Noble WC. Distribution of genes encoding erythromycin ribosomal methylases and an erythromycin efflux pump in epidemiologically distinct groups of staphylococci. *J Antimicrob Chemother* 1993; 31: 211-7.
12. Weisblum B. Resistance to macrolide-lincosamide-streptogramin antibiotics. In: Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA, Rood JP. Gram-Positive Pathogens. Washington, DC: American Society for Microbiology (ASM) Press; 1999. p. 682-98.
13. Leclercq R. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 482-92.
14. 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: 315-6.
15. Naderinasab M, Yousefi F, Farshadzadeh Z, Sasan M. Determining the inducible resistance phenotype in methicillin resistance staphylococcus aureus and coagulase negative staphylococci. *Iranian J Med Microb* 2007; 1: 25-31.
16. NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 12th informational supplement. NCCLS document M100-S14. Wayne, PA: NCCLS, 2004.
17. براتی بابک، سعادتی مجتبی، بهمنی میرزاخلیل. جداسازی و شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس های انتروتوکسیکوژنیک تایپ A به وسیله Multiplex PCR. مجله طب نظامی ۱۳۸۵؛ سال ۸، شماره ۲۸: صفحات ۱۱۹ تا ۱۲۸.
18. Ito T, Okuma K, Ma XX. Insights on antibiotic resistance of Staphylococcus aureus from its whole genome : Genomic island SCC. Frug Resist Updat 2003; 6: 41-52.
19. Sibery GK, Tekle T, Carrol K and Dick J. Failure of clindamycin treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus expressing inducible clindamycin resistance in vitro. Clin Infect Dis 2003; 37: 1227-1260.
20. Janapatla R, Yan J, Hang A, Chen H, Wu H, Wu J. Inducible clindamycin resistance in Staphylococcus aureus isolates causing

bacteremia at a university hospital in southern Taiwan. Diagnostic microbiology and infectious disease 2007; 58: 203-209.
21. Gadepalli R, Dhawan B, Mohanty S, Kapil A, Das BK, Chaudhry R. Inducible clindamycin resistance in clinical isolates of Staphylococcus aureus. Indian J Med Res 2006; 123: 571-3.
22. Fokas S, Tsironi M, kalkani M, Diony M. Prevalence of inducible clindamycin resistance in macrolide-resistant Staphylococcal spp. Clin Microbiol Infect 2005; 11: 335-40.
23. Azap OK, Arslan H, Timurkaynak F, Yapar G, Oruc E and Gag U. Incidence of inducible clindamycin resistance in Staphylococci. Clin Microbiol Infect 2005; 11: 582-4.
24. Delialioglu N, Aslan G, Ozturk C, Baki V, Sen S, Emakdas G. Inducible clindamycin resistant in Staphylococci isolated from clinical samples. Jpn J Infect Dis 2005; 58: 104-6.
25. 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.
26. Rahbar M and Hajia M. Inducible clindamycin resistance in Staphylococcus aureus : a cross-sectional report. Pak J Biol Sci 2007; 10: 189-192.

Tehran University Medical Journal; Vol. 67, No. 4, July 2009: 250-256

The importance of inducible clindamycin resistance in enterotoxin positive *S. aureus* isolated from clinical samples

Memariani M.
Pourmand M.R.*
Shirazi M.H.
Soltan Dallal M.M.
Abdossamadi Z.
Mardani N.

Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences

Received: March 04, 2009 Accepted: April 05, 2009

Abstract

***Background*:** Clindamycin is a suitable antibiotic for treatment of skin and soft tissue infections. Moreover, it can suppress toxin production in many pathogenic bacteria such as *S. aureus*. There are two mechanisms of resistance in this antibiotic. Constitutive resistance can be detected by standard disk diffusion method but in the case of inducible resistance, D-test should be carried out. The main aim of this study is to determine prevalence of clindamycin inducible resistance among methicillin resistant and susceptible isolates of *S. aureus* isolated from different clinical samples.

***Methods*:** A total of 87 clinical isolates from clinical samples were collected. Methicillin resistance was determined using standard disk diffusion method. Subsequently, D-test was carried out according to CLSI guideline. Presence of the sea gene (enterotoxin A) was detected by PCR using specific primers.

***Results*:** Out of 87 isolates, 18(20.7%) were clindamycin inducible resistant while constitutive resistance was detected among 21(24.1%) isolates. The 95% Confidence intervals for the proportion of inducible clindamycin resistance among clinical isolates of *S. aureus* was 12.2% to 29.2%. The inducible phenotype in MRSA isolates was more common than that of MSSA isolates (33.3% vs 5.1%).Significant differences were found between prevalence of inducible clindamycin resistance and type of infection (p=0.045). Importantly, there was a significant correlation between sea gene and the constitutive/inducible resistance (p<0.0001).

Conclusions: Due to the high prevalence of clindamycin inducible resistance among clinical isolates of *S. aureus*, we recommend D-test to avoid treatment failure.

Keywords: Clindamycin, inducible resistance, *S. aureus*, enterotoxin A.

*Corresponding author: Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran university of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Tel: +98-21-88954910
email: mpourmand@tums.ac.ir