بررسی فنوتیپی و ملکولی فاکتورهای کد کننده مقاومت به متی سیلین و اریترومایسین، دراستافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه بینی دانشجویان علوم پزشکی قزوین

اکرم عظیمی[1]، میراسماعیل موسوی[1]، امیر پیمانی*[1]

1-مرکز تحقیقات میکروب شناسی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

***نشانی برای مکاتبه:** قزوین، بیمارستان ولایت، مرکز تحقیقات میکروب شناسی پزشکی، a.peymani@gmail.com

دریافت مقاله: مهر نود و هفت پذیرش برای چاپ: آذر نود و هفت

چکیده

سابقه و هدف: *ماکرولید، لینکوزامید و استرپتوگرامین B (MLSB) در درمان عفونت های استافیلوکوکی استفاده می شوند. استفاده گسترده از این آنتی بیوتیک ها منجر به بروز مقاومت شده است. این مطالعه به بررسی فنوتیپی و ملکولی فاکتورهای کد کننده مقاومت به متی سیلین و اریترومایسین، درجدایه های استافیلوکوکوس اورئوس جمع آوری شده از نمونه بینی دانشجویان حاضر در بیمارستان می پردازد.*

مواد و روش ها: *نمونه برداری مقطعی به صورت سرشماری از بین 172 نفر از دانشجویان حاضر در بیمارستان های قزوین، در طی سال 95 انجام شد. جدایه های باکتریایی با استفاده از روش های استاندارد آزمایشگاهی تعیین هویت شدند. الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی و آزمون القایی D به روش انتشار در دیسک سنجیده شد. ردیابی ژن های با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) انجام گردید.*

یافته ها: *از مجموع 172 نمونه، 50 (29٪) جدایه استافیلوکوکوس اورئوس جمع آوری شد. در مجموع، 4 (8٪) جدایه مقاوم به اریترومایسین و کلیندامایسین (فنوتیپcMLSb)، 12 (24٪) جدایه دارای مقاومت القایی (فنوتیپ) و 6 (12٪) جدایه مقاوم به اریترومایسین و حساس به کلیندامایسین (فنوتیپ MS) بودند. ژن های mecA، msrA، ermA ، ermB و ermC به ترتیب در 24 (48٪)، 10 (20٪)، 12 (24٪)، 4 (8٪) و 6 (12٪) جدایه مشاهده شدند.*

نتیجه گیری: *نتایج مطالعه حاضر حاکی از حضور قابل توجه جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و ژن های دخیل در بروز مقاومت به داروهای MLSB در نمونه های بینی دانشجویان است که پیگیری و درمان این حاملین در محیط های درمانی ضروری است.*

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، ناقلین بینی، مقاومت آنتی بیوتیکی، آزمون D

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم ترین عوامل عفونت های بیمارستانی و اکتسابی از جامعه است. در حال حاضر به دلیل قابلیت بیماری زایی بالا و مقاومت در برابر عوامل ضد میکروبی به یکی از مهم ترین مشکلات خود درمانی در جهان تبدیل شده است(1). استافیلوکوکوس اورئوس در انسان در بینی، پرینه و پوست حضور دارد. این باکتری می تواند طیف وسیعی از بیماری ها مانند عفونت های پوستی، پنومونی، اندوکاردیت و استئومیلیت را ایجاد کند(2). بیش از 80٪ از افرادی که به عفونت های استافیلوککی مبتلا شده اند، حاملین استافیلوکوکوس اورئوس در بینی بوده اند(3،4).

استافیلوکوکوس اورئوس به لحاظ قابلیت ماندگاری در سطوح خشک و انتقال به افراد حساس از طریق تماس مستقیم فرد به فرد یا از طریق تماس با وسایل آلوده حائز اهمیت می باشند. این باکتری به راحتی در مخاط تنفسی فوقانی تجمع یافته که می تواند در ایجاد عفونت های اکتسابی در جامعه و در بیماران بستری شده در بخشهای مختلف بیمارستان نقش ایفا نماید. درمان این بیماران به سبب پیچیدگی و بروز الگوهای مختلف مقاومت داروئی امروزه با چالش های زیادی مواجه شده است(3،5). افزایش عفونت های استافیلوکوکوس مقاوم به متی سیلین (MRSA) و الگوهای تغییر یافته در مقاومت

های ضد میکروبی منجر به استفاده از آنتی بیوتیک های ماکرولید- لینکوزامید-استرپتوگرامینB (MLSB) در درمان این عفونت های ناشی از این ارگانیسم شده است. اما استفاده گسترده از این آنتی بیوتیک ها منجر به افزایش تعداد سویه های استافیلوکوکوس مقاوم به آنتی بیوتیک های MLSB شده است(6).

ماکرولیدها و لینکوزامیدها آنتی بیوتیک هایی با ساختار شیمیایی متمایزی هستند، اما مکانیسم عمل آن ها مشابه می باشد. کلیندامایسین و اریترومایسین از داروهای انتخابی در درمان بیماران حساس به پنی سیلین می باشند. کلیندامایسین از رده لینکوزآمیدها و اریترومایسین از رده ماکرولیدها با مهار پروتئین سازی امروزه در درمان عفونت های عمیق استافیلوکوکی و سایر عفونت های بی هوازی مورد استفاده قرار می گیرند(8،7). بروز مقاومت به آنتی بیوتیکهای MLSB در استافیلوکوکوس اورئوس به طور عمده از طریق سه مکانیسم مقاومتی زیر صورت می پذیرد؛ غیر فعال سازی آنزیمی، تغییر جایگاه هدف و فعال شدن پمپ افلاکس. شایع ترین مکانیسم مقاومتی، تغییر سایت هدف ریبوزومی است که بواسطه ژن *erm* که با تولید آنزیم های متیلاز سبب متیلاسیون یا موتاسیون 23srRNA شده در نتیجه از اتصال آنتی بیوتیک به جایگاه ریبوزومی خود ممانعت می کند و از این طریق مقاومت های متقابلی بین ماکرولیدها، لینکوزامیدها و استرپتوگرامینB ایجاد می کند (10،9). سه ژن *ermA*، *ermB* و *ermC* می توانند مقاومت دائمی (Constitutive Macrolides- (cMLSB Lincosamides- Streptogramins B و القایی inducible Macrolides - (iMLSB) Lincosamides - StreptograminsB را نسبت به داروهای MLSB ایجاد کنند. سویه های دارای مقاومت دائمی نسبت به کلیندامایسین با انجام آزمون آنتی بیوگرام قابل شناسایی هستند، اما سویه های دارای مقاومت القایی با این روش قابل شناسایی نیستند و به آزمایشهای اختصاصی نیاز دارند که برای این منظور از آزمون استاندارد D استفاده می شود(12،11،6). مکانیسم دیگر مقاومت قابل القاء نسبت به اریترومایسین و استرپتوگرامین B توسط ژن *msrA* ایجاد می شود که کد کننده پمپ افلاکس وابسته به ATP است. *msrA*به عنوان فاکتور مقاومت به اریترومایسین در استافیلوکوکهای کواگولاز منفی (CONS) نیز شناسایی شده است. همچنین مقاومت به واسطه پمپ افلاکس توسط ژن *mef* نیز در سایر باکتری های گرم مثبت مشاهده شده است(10). یکی از مهمترین مکانیزم های مقاومت در گونه های استافیلوکوکوس، مقاومت به متی سیلین می باشد که عمدتا توسط ژن *mecA* که بر روی کاست ژنی کروموزومی *Staphylococcal Chromosomal cassette) SCC)* قرار دارد، ایجاد می شود. گونه های استافیلوکوکوس مقاوم به متی سیلین به تمام پنی سیلینازها و سفالوسپورین ها مقاوم هستند(14،13).

نقش حاملین انسانی به ویژه کادر و پرسنل جامعه پزشکی در انتقال و انتشار عوامل میکروبی مقاوم، به ویژه به طریق متقاطع از اهمیت بالایی بر خوردار است. با توجه به حضور و نقش قابل توجه دانشجویان علوم پزشکی در محیط های درمانی، هدف از این مطالعه تعیین الگوی مقاومت دارویی و فراوانی ژن های دخیل در مقاومت به آنتی بیوتیک ها کلیندامایسین و اریترومایسین در جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس جمع آوری شده از بینی دانشجویان حاضر در بیمارستان های دانشگاه علوم پزشکی قزوین در طی سال 95 می باشد.

روش کار

در این مطالعه توصیفی مقطعی نمونه برداری مقطعی به صورت سرشماری از بینی 172 نفر از دانشجویان دانشگاه علوم پزشکی قزوین، [40 (23/2 ٪) نمونه، دانشجویان پزشکی؛32 (18٪/6) نمونه، دانشجویان پرستاری؛ 64 (37/2٪) نمونه، دانشجویان مامایی و 36(20/9٪) نمونه، دانشجویان فوریت های پزشکی] در طی سال 95 بعد از حضور دانشجویان در بیمارستان های آموزشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین (قدس، شهید رجایی، کوثر و بوعلی) انجام شد. نمونه ها بلافاصله در محیط مانیتول سالت آگار کشت داده شدند. جدایه های باکتریایی پس از تعیین هویت با روش های استاندارد بیوشیمیایی و میکروب شناسی شامل کاتالاز، کواگولاز، تخمیر مانیتول روی محیط مانیتول سالت آگار و آزمایش DNase، در فریزر20- درجه سانتی گراد نگهداری شده، سپس مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفتند. تمام جدایه ها با شناسایی ژن *femA* (اختصاصی گونه استافیلوکوکوس اورئوس) تایید هویت شدند. ژنوم تمام جدایه ها طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت استخراج Bioneer (کره جنوبی) استخراج گردید.

جهت تأیید صحت و غلظت مناسب DNA استخراج شده، تمامی نمونه ها توسط دستگاه نانودراپ در نسبت A260 به A280 آزمون شدند. تست سنجش حساسیت آنتی بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن،

طبق دستورالعمل CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) نسبت به آنتی بیوتیک های سفوکسیتین (30 میکروگرم)، تری متوپریم-سولفومتوکسازول (5 میکروگرم)، پنی سیلینG (10 واحد)، کلیندامایسین (2 میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (5 میکروگرم)، اریترومایسین (15میکروگرم) و تتراسیکلین (30 میکروگرم) انجام شد. نتایج پس از 24 ساعت انکوباسیون در دمای 37 درجه، به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم گزارش شد. به منظور بررسی حضور مقاومت القایی به کلیندامایسین، جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس های تایید شده، با آزمون القایی D طبق روش توصیه شده CLSI مورد بررسی قرار گرفتند. به طور خلاصه ابتدا، سوسپانسیون به غلظتی معادل نیم مک فارلند تهیه و بر روی مولر هینتون اگار، کشت چمنی انجام شد. دیسک اریترومایسین (15 میکروگرم) (شرکت Mast انگلستان) در فاصله 26-15 میلی متری دیسک کلیندامایسین (2میکروگرم) بر روی محیط قرار داده شد. بعد از 18 ساعت انکوباسیون در دمای 35 درجه مورد بررسی قرار گرفتند. در این آزمون از سویه استاندارد استافیلوکوس اورئوس ATCC 25923 به عنوان کنترل استفاده شد. تفسیر نتایج برای تعیین فنوتیپ جدایه ها بر اساس دستورالعمل CLSI به شرح زیر انجام شد: نمونه های دارای مقاومت القایی مثبت، کلیندامایسین حساس و به اریترومایسین مقاوم (فنوتیپ iMLSB)، نمونه های دارای مقاومت ساختاری، مقاوم به اریترومایسین و کلیندامایسین (فنوتیپ cMLSB)، نمونه های مقاوم به اریترومایسین، حساس به کلیندامایسین و (آزمون D منفی) به عنوان فنوتیپ MS در نظر گرفته شدند(15).

در ادامه، حضور ژن های *ermA*، *ermB*، *ermC*، *msrA* و *mecA* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی در جدول 1 مورد بررسی قرار گرفت. واکنش PCR با حجم نهایی 25 میکرولیتر انجام شد. هر واکنش شامل 200 میکرومول dNTP، 10 پیکومول از هر پرایمر، 1/5 میلی مول در لیتر کلرید منیزیم، 0/5 واحد آنزیم پلیمراز و 50 نانوگرم DNA الگو بود. تکثیر ژن های مذکور با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Applied biosystem,USA) تحت شرایط دمایی زیر انجام شد:دناتوراسیون اولیه در دمای $95^{\circ C}$ به مدت 3 دقیقه و 35 سیکل حرارتی شامل: $95^{\circ C}$ دناتوراسیون به مدت 1دقیقه، دمای اتصال ($58^{\circ C}$ برای *ermC*، $62/5^{\circ C}$ برای *ermA*، $59^{\circ C}$ برای *ermB*،$55^{\circ C}$ برای *msrA* و $61^{\circ C}$ برای *mecA*

به مدت 30 ثانیه)، دمای تکثیر در $72^{\circ C}$ به مدت 45 ثانیه و تکثیر نهایی در دمای $72^{\circ C}$ به مدت 7 دقیقه (17،16).

الکتروفورز محصولات PCR در ژل آگارز 1/5 درصد و پس از رنگ آمیزی با سایبر گرین در ولتاژ 100 به مدت 45 دقیقه صورت گرفته، سپس مورد بررسی قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری با تعیین میانگین فراوانی و درصد ژن های مورد مطالعه با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش 18 انجام شد.

جدول 1. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت جداسازی ژن های مورد مطالعه

ژن	سایز(جفت باز)	توالی پرایمرها	منابع
ermA	139	F: 5´-TATCTTATCGTTGAGAAGGGATT-3´ R: 5´-CTACACTTGGCTTAGGATGAAA-3´	16
ermB	142	F: 5´-CTATCTGATTGTTGAAGAAGGATT-3´ R: 5´-GTTTACTCTTGGTTTAGGATGAAA-3	16
ermC	190	F: 5´-CTTGTTGATCACGATAATTTCC-3´ R: 5´-ATCTTTTAGCAAACCCGTATTC-3´	16
msrA	163	F 5´-TCCAATCATAGCACAAAATC-3´ R 5´-AATTCCCTCTATTTGGTGGT-3´	16
mecA	174	F 5´-AACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAG-3 R 5´-ATTGCTGTTAATATTTTTTGAGTTGAA-3´	17
femA	132	F: 5´AAAAAAGCACATAACAAGCG R: 5´GATAAAGAAGAAACCAGCAG	14

یافته ها

از مجموع172 دانشجو، 50 (٪29) جدایه استافیلوکوکوس اورئوس تشخیص داده شد که از این تعداد، 8 (٪16) جدایه مربوط به دانشجویان رشته پزشکی، 8 (٪16) جدایه مربوط به دانشجویان رشته پرستاری، 16 (٪32) جدایه مربوط به دانشجویان رشته مامایی و 18 (٪36) جدایه مربوط به دانشجویان فوریت های پزشکی بود. تمامی جدایه ها از نظر حضور ژن *femA* مثبت بودند.

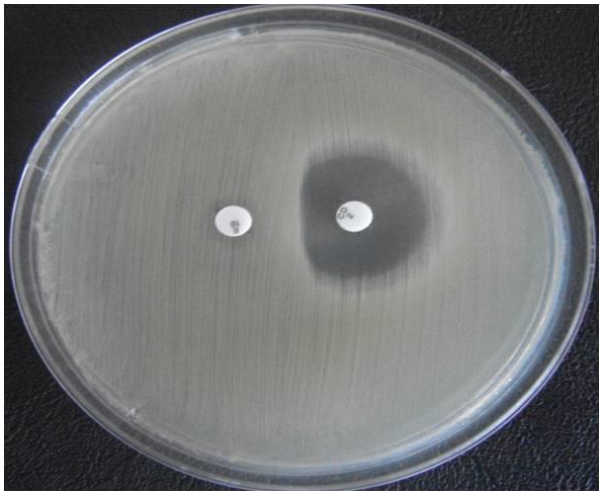
جدایه ها به ترتیب بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی بیوتیک های پنی سیلین (٪100)، تتراسیکلین (٪76)، سفوکسیتین (٪48) و اریترومایسین (٪44) داشتند (جدول2).

جدول 2. الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی بیوتیک های بکار رفته در مطالعه

نوع آنتی بیوتیک	حساس (درصد) تعداد	نیمه حساس (درصد) تعداد	مقاوم (درصد) تعداد
پنی سیلین	-	-	50 (100)
اریترومایسین	24 (48)	4 (8)	22 (44)
کلیندامایسین	44 (88)	2 (4)	4 (8)
سفوکسیتین	26 (52)	-	24 (48)
تتراسیکلین	6 (12)	6 (12)	38 (76)
سیپروفلوکساسین	46 (92)	2 (4)	2 (4)
تری متوپریم-سولفومتوکسازول	48 (96)	-	2 (4)

از بین 50 جدایه استافیلوکوکوس اورئوس، 24 (٪48) جدایه مقاوم به متی سیلین (MRSA) شناسایی شد که نسبت به دیسک سفوکسیتین مقاوم و از نظر حضور ژن *mecA* مثبت بودند. تمامی جدایه های مقاوم به اریترومایسین و کلیندامایسین، به متی سیلین نیز مقاوم بودند. در مجموع 4 (٪8) جدایه مقاوم به اریترومایسین و کلیندامایسین (فنوتیپ cMLSb)، 12 (٪24) جدایه دارای مقاومت القایی (فنوتیپ iMLSb)، 22 (٪44) جدایه حساس به اریترومایسین و کلیندامایسین، 4 (٪8) جدایه مقاومت حد واسط به اریترومایسین، 2 (٪4) جدایه مقاومت حد واسط به کلیندامایسین و 6 (٪12) جدایه مقاوم به اریترومایسین و حساس به کلیندامایسین (فنوتیپ MS) بودند. آزمون D بر روی جدایه های مقاوم به اریترومایسین مشخص کرد که که 12 جدایه مثبت بودند (شکل 1).

شکل1- نتیجه آزمون القایی D در نمونه شماره 12 استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده در این مطالعه



در 8 جدایه مربوط به دانشجویان رشته پزشکی، 4 (٪50) ایزوله فنوتیپ iMLSb؛ در 8 جدایه مربوط به دانشجویان پرستاری، 2 (٪25) جدایه فنوتیپ iMLSb؛ در 16 جدایه مربوط به رشته مامایی 4 (٪25) فنوتیپ iMLSb و2 (٪12/5) فنوتیپ cMLSb و در 18 جدایه از دانشجویان فوریت های پزشکی، 2 (٪11/1) فنوتیپ iMLSb، 2 (٪11/1) فنوتیپ cMLSb و6 (٪33/3) فنوتیپ MS شناسایی شد(جدول 3).

جدول 3. نتایج بدست آمده از آزمون القایی D در نمونه های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بینی دانشجویان

فنوتیپ تست القایی	فنوتیپ مقاومت	کلیندامایسین			اریترومایسین			(درصد) تعداد ایزوله ها
		حساس	حد واسط	مقاوم	حساس	حد واسط	مقاوم	
D	iMLSb	٪100	-	-	-	-	٪100	12 (24)
R	cMLSb	-	-	٪100	-	-	٪100	4 (8)
S	فاقد مقاومت	٪100	-	-	٪100	-	-	22 (44)
منفی	MS فنوتیپ	٪100	-	-	-	-	٪100	6 (12)
مقاومت حد واسط در برابر اریترومایسین	-	-	-	-	-	٪100	-	4 (8)
مقاومت حد واسط در برابر کلیندامایسین	-	-	٪100	-	-	-	-	2 (4)

از مجموع 50 جدایه، ژن *ermA* در 12 (٪24) جدایه، ژن *ermB* در 4 (٪8) جدایه و ژن *ermC* در 6 (٪12) جدایه شناسایی شد. . در 4 (٪8) جدایه ژن *ermA* و *ermC* به صورت همزمان حضور داشتند. همچنین، 24 (٪48) جدایه حامل ژن *mecA*، 10(٪20) جدایه حامل ژن *msrA* بودند. هر 10 جدایه مثبت از نظر ژن *msrA*، مقاوم به اریترومایسین بودند.

در جدایه های مقاوم به اریترومایسین و کلیندامایسین ژن *msrA* و *ermA* بیشتر از دیگر ژن ها حضور داشت و ژن های *ermB* و *ermC* در این جدایه ها دیده نشد. همچنین، با بررسی فراوانی ژن های مقاومت در جدایه های مقاوم به اریترومایسین و حساس به کلیندامایسین (iMLSb) مشخص شد که ژن *msrA* و *ermA*، فراوانی بیشتری نسبت به سایر ژن ها داشت(جدول 4).

جدول 4. فراوانی ژن های مقاومت ژن های مقاومت به MLSB در جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بینی دانشجویان

فنوتیپ مقاومت	ژن مقاومت				
	msrA (درصد) تعداد	*ermA* (درصد) تعداد	*ermB* (درصد) تعداد	*ermC* (درصد) تعداد	*ermA/ermc* (درصد) تعداد
iMLSB	4(33/3)	6(50)	2(16/6)	2(16/6)	2(16/6)
cMLSB	2(50)	2(50)	0(0)	0(0)	0(0)
MS	4(66/6)	2(33/3)	0(0)	0(0)	0(0)

بحث

با روند رو به افزایش عفونت های ناشی از سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، پیشگیری از بروز این عفونت ها و ردیابی کانون انتشار باکتری در بیمارستان ها را ضروری کرده است(۱۶-۱۸). آنتی بیوتیک های MLSB برای درمان عفونت های ناشی از MRSA به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرند(19). مقاومت القایی به MLSB به ویژه نسبت به کلیندامایسین رو به افزایش بوده و موجب نگرانی در درمان جدایه های MRSA شده است(20). درمطالعه حاضر، از بین 172 دانشجوی مورد مطالعه،50 نفر (٪29) حامل استافیلوکوکوس اورئوس در بینی بودند. در مطالعات مشابه میزان حاملین این باکتری در بینی دانشجویان علوم پزشکی همدان (٪25/2)، کارکنان بیمارستان های شهر کرمان و تنکابن به ترتیب 37٪ و 33/3 گزارش شده است که با نتایج حاصل از مطالعه انجام شده همخوانی دارد(21-23). خلیلی و همکاران در کارکنان بیمارستان شهر یزد میزان حاملین استافیلوکوکوس اورئوس را 12/7٪ گزارش کردند که از این مطالعه کم تر و در مطالعه دیگری، درکارکنان بیمارستان ولیعصر مشکین شهر 45٪، گزارش شد که از مطالعه ما بیشتر می باشد(24،25). تفاوت در میزان حضور استافیلوکوکوس اورئوس در بینی افراد در جوامع مختلف دیده شده و به متفاوت بودن نوع سویه باکتریایی، میزبانی و محیطی به خصوص میزان مصرف آنتی بیوتیک ها نسبت داده شده است. در این مطالعه 48٪ از جدایه ها به عنوان MRSA شناخته شدند که با نتایج علی قلی و صادری در شهر تهران، که شیوع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین را به ترتیب 41/85٪ و 49٪ گزارش کردند، همخوانی دارد (26،27). میزان MRSA در سایر کشورها نیز بالا می باشد. در ترکیه به طور متوسط میزان MRSA ٪51، در آمریکا بین 33 تا 55٪ و در اروپا 20٪ گزارش شده است(28-30). براساس نتایج این مطالعه، از 50 جدایه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بینی دانشجویان دانشگاه علوم پزشکی قزوین،44٪ از این جدایه ها مقاوم به اریترومایسین بودند. ازبین جدایه های مقاوم به اریترومایسین، فنوتیپ مقاومت iMLSB، cMLSB وMS به ترتیب ٪54/5، ٪18/2 و ٪27/3 گزارش شد. مطالعه سیفی و همکاران در سال 2012 در مشهد نشان داد که از 88 جدایه بالینی MRSA، ٪25/4 فنوتیپ iMLSB، ٪52/3 فنوتیپ cMLSB و ٪15/9 فنوتیپ MS را نشان دادند (31). در مطالعه نادری نسب و همکاران در سال 2007 در مشهد بر روی 32 جدایه بالینی MRSA، فقط یک جدایه دارای فنوتیپ iMLSB بود(32). صادری و همکاران در سال 2009 در تهران، میزان فراوانی iMLSB و cMLSB را به ترتیب ٪9/3 و ٪83/9 گزارش کردند و هیچ فنوتیپی از MS گزارش نشد (27). در این راستا در سال 2007، Aktas و همکاران در ترکیه از 102 استافیلوکوکوس جمع آوری شده، 24 استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی کردند

که 20/8٪، فنوتیپ iMLSB و58/3٪ فنوتیپ cMLSB را نشان دادند(33). Shantala و همکاران در سال 2011 در هند، 265 جدایه MRSA را مورد مطالعه قرار دادند، از بین این جدایه ها، 225 (84٪/9) جدایه به اریترومایسین و 170 (64/1٪) جدایه به کلیندامایسین مقاوم بودند. از 225 جدایه مقاوم به اریترومایسین، 49/3٪ مقاومت دائمی (cMLSB) و 39٪/1 مقاومت القائی (iMLSB)نشان دادند و فنوتیپ MS در 11/5٪ موارد گزارش شد(34). در مطالعه حاضر، 100 ٪ جدایه های iMLSB استافیلوکوکوس اورئوس، فنوتیپ MRSA داشتند و فنوتیپ iMLSB در هیچ یک از جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس MSSA دیده نشد. فراوانی و شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی، در مناطق جغرافیایی مختلف کشور و یا در سایر نقاط جهان، متنوع است که می تواند با میزان مصرف آنتی بیوتیک و فشار ناشی از آن برای بروز مکانیسم های مختلف مقاومت دارویی مرتبط باشد. مطالعه ما نشان می دهد که میزان شیوع مقاومت القایی در جدایه های مورد بررسی بیشتر از سایر آزمون های معمول آزمایشگاهی تشخیص داد، که شکست در درمان را به همراه دارد. بنابراین استفاده از آزمون القایی D در تشخیص جدایه های دارای مقاومت القایی کاملا ضروری به نظر می رسد. در مطالعه حاضر، تمامی جدایه های مقاوم به سفوکسیتین از نظر حضور ژن *mecA* مثبت بودند. در مطالعه حاضر، در بین 50 جدایه مورد بررسی، ژن های *ermA*، *ermB*، *ermC* و *msrA* به ترتیب در 24٪، 8٪، 12٪ و20٪ جدایه ها مشاهده شدند. در مطالعه دیگری توسط قنبری و همکاران در سال 2016 در اصفهان، 9 جدایه iMLSB مشخص گردید که 4 (44٪/4) جدایه حامل ژن *ermC*،2 (22٪/2) جدایه حامل ژن *ermB*، 1 (11/1٪) جدایه دارای ژن *ermA* بودند(35). صداقت و همکاران در سال 2017 در اصفهان، میزان فراوانی ژن های مقاومت به MLSB را در جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بالین و بینی، به ترتیب حامل ژن های *ermC* (35/2٪)، *ermA* (20/4٪) و *msrA* (17/3٪) گزارش کردند. در 7٪ از جدایه ها، ژن های *ermA*، *ermC* و *msrA* به طور همزمان حضور داشتند(36). همچنین در مطالعه ی موسویان و همکاران در شهر اهواز درسال 2014، 41/1٪ و 17/7٪ از جدایه های استافیلوکوکوس، دارای ژن های *ermA* و *ermC* بودند. هیچ کدام از جدایه ها حاوی ژن *ermB* نبودند(37). Shantala و همکاران، ژن های *ermA* و *ermC* را به ترتیب در 85 (37٪/7) جدایه و 60 (26٪/6) جدایه شناسایی کردند که مشابه نتایج مطالعه حاضر است(34). Zmantar و همکاران در سال 2008 در تونس، فراوانی ژن های مقاومت را به ترتیب *ermA* (22٪/8)، *ermB* (45٪/7)، *ermC* (17٪/1) و *msrA* (28٪/6) گزارش کردند(38).

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر حاکی از حضور قابل توجه جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم نسبت به آنتی بیوتیک های معمول خط اول و دوم درمانی و ژن های دخیل در بروز مقاومت به این داروها در نمونه های بینی دانشجویان حاضر در بیمارستان های آموزشی شهر قزوین است. نظر به اهمیت و قابلیت بیماریزایی این ارگانیسم های مقاوم، انجام اقدامات لازم جهت بررسی دانشجویان زیر گروه پزشکی که در بیمارستان ها و مراکز بهداشتی حضور داشته و با بیماران در ارتباط مستقیم هستند، ضروری است. لازم است افراد ناقل این باکتری شناسایی و در مرحله بعد تحت درمان قرار گیرند. گردش جدایه های مقاوم به آنتی بیوتیک در بین افراد جامعه به خصوص جمعیت در معرض خطر مانند کودکان، افراد دارای نقص ایمنی و مسن ترها مورد توجه ویژه است که باید تدابیر کنترلی مناسبی در این راستا و برای پیش گیری از گسترش آن در بیمارستان بستری در مراکز درمانی مد نظر قرارگیرد.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر با اعتبارات پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین و در مرکز تحقیقات میکروب شناسی انجام گرفته است بدین وسیله از مدیران و پرسنل مرکز تحقیقات صمیمانه سپاسگزاری می گردد.

REFERENCES

1. Pourmand MR, Memariani M, Hoseini M, Yazdchi SB. High prevalence of sea gene among clinical isolates of *Staphylococcus aureus* in Tehran. Acta Medica Iranica 2009; 47(5): 357-361.
2. Martineau F1, Picard FJ, Roy PH, Ouellette M, Bergeron MG. Species-specific and ubiquitous-DNA-based assays for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 1998;36(3):618-23.
3. Bogaert D1, van Belkum A, Sluijter M, Luijendijk A, de Groot R, Rümke HC, et al. Colonisation by Streptococcus pneumoniae and *Staphylococcus aureus* in healthy children. Lancet. 2004 5;363(9424):1871-2.
4. Creech CB 2nd1, Kernodle DS, Alsentzer A, Wilson C, Edwards KM. Increasing rates of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in healthy children. Pediatr Infect Dis J. 2005;24(7):617-21.
5. Weidenmaier C1, Kokai-Kun JF, Kristian SA, Chanturiya T, Kalbacher H, Gross M, et al. Role of teichoic acids in *Staphylococcus aureus* nasal colonization, a major risk factor in nosocomial infections. Nat Med. 2004;10(3):243-5.
6. Shantala GB, Adithi SS, Rahul RK, Nagarathnamma T. Detection of inducible clindamycin resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* by the Disc Diffusion Induction Test. J Clinical and Diagnostic Research. 2011; 5(1): 35-37.
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 KR1, 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. Frank AL1, 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.
10. Marr JK1, Lim AT, Yamamoto LG. Erythromycin-induced resistance to clindamycin in *Staphylococcus aureus*. Hawaii Med J. 2005;64(1):6-8.
11. Mohanasoundaram KM. The Prevalence Of inducible clindamycin resistance Among Gram Positive Cocci From Various Clinical Specimens. J Clinical and Diagnostic Research. 2011; 5(1): 38 – 40
12. Fasih N, Irfan S, Zafar A, Khan E, Hasan R. Inducible clindamycin resistance due to expression of erm genes in *Staphylococcus aureus*: Report from a Tertiary Care Hospital Karachi, Pakistan. J Pak Med Assoc. 2010; 60(9): 750-753.
13. Iraj Sedighi, Rasoul Yousefi Mashouf, Neda Pak, Mohammad-Ali Seif Rabiee. D-Test Method for Detection on inducible clindamycin resistance in Staghylococcus aureus. Iran J pediatr.2009;vol.293-297.

14. Mehrotra M, Wang G, Johnson WM. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. J Clin Microbiol 2000; 38 (3): 1032-5
15. Wayne P. Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for 310 antimicrobial susceptibility testing. 28th Inform Suppl 2018;34:M100-S24.
16. Moosavian M1, Shoja S2, Rostami S3, Torabipour M4, Farshadzadeh Z5. Inducible clindamycin resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* due to erm genes, Iran. Iran J Microbiol. 2014;6(6):421-7.
17. . Petrelli D1, Repetto A, D'Ercole S, Rombini S, Ripa S, Prenna M, Vitali LA. Analysis of meticillin-susceptible and meticillin-resistant biofilm-forming *Staphylococcus aureus* from catheter infections isolated in a large Italian hospital. J Med Microbiol. 2008;57(Pt 3):364-72.
18. Boucher H1, Miller LG, Razonable RR. Serious infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis. 2010 15;51 Suppl 2:S183-97
19. Sexena S, Singh T, Rakshit P, Dutta R, Gupta RK. Prevalence of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* at a tertiary care hospital: implications for clinical therapy. Int J Curr Microbiol App Sci. 2014; 3(3): 720-725.
20. Kaur H, Kaur Ha. Clindamycin resistance in PVL positive isolates of *Staphylococcus aureus*, Belgaum, North Karnataka (India).
IOSR Journal of Engineering (IOSRJEN) 2014; 4(3): 31-37.
21. Hashemi S, Seifrabiei M, Ahmadi S, Alikhani M.Frequency of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and its antimicrobial resistance in Hamadan's medical students. Sci J Hamadan Univ Med Sci 2012; 19(3):36-40. [in Persian]
22. Mansouri S. Nose and throat carrier rate of S. aureus in the saffs of 4 university hospitals in Kerman and comparison with the control and patients group. TUMJ 1998; 56(1):36-41. [in Persian]
23. Mansouri Ghiasi MA, Nasroullahi Omran A, Hashemi M, Rajab Zadehkanafi P, JahangiriRad Manjili M. The prevalence of antibiotic resistance pattern of *Staphylococcus aureus* from nasal carriage of surgical wards staff in Shahid Rajaee hospital of Tonekabon, Med Lab J 2013; 7(1):35-39. [in Persian]
24. Khalili MB, Sharifi-Yazdi MK, Dargahi H, Sadeghian HA. Nasal Colonization rate of *Staphylococcus aureus* strains among
Health Care Service Employee’s of Teaching University Hospitals in Yazd. Acta Med Iran. 2009. 47(4):315-17.
25. Nikbakht M, Hassan Nagad S, Rezazade B, Nagizadeh Baghi A, Gorbani F, Faraji F, et al. Antibiotic resistance pattern of isolated strains of *Staphylococcus* form personnel nasal specimens in Meshgin Shahar Valiasr hospital. J Ardabil Univ Med Sci 2009; 9(1):80-88. [in Persian]
26. Aligholi M, Emaneini M, Jabalameli F, Shahsavan S, Dabiri H, Sedaghat H. Emergence of high level vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in the Imam Khomeini hospital in Tehran. Med Princ Pract 2008; 17:432-4.
27. Saderi H, Owlia P, Jalali Nadoushan MR. Difference in epidemiology and antibiotic susceptibility of methicillin resistant and methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* isolates. Iranian Journal of Clinical Infectious Disease 2009; 4(4): 219-223.3.

28. Adaleti R, Nakipoglu Y, Karahan ZC,Tasdemir C, Kaya F. Comparison of polymerase chain reaction and conventional methods in detecting methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Infect Dev Ctries 2008; 2(1): 46-50.
29. Appelbaum PC. Microbiology of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis 2007; 45(3): 165-170.
30. Wannet WJ, Spalburg E, Heck ME, Pluister GN, Willems RJ, De Neeling AJ. Widespread dissemination in the Netherlands of the epidemic berlin methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone with low-level resistance to oxacillin. J Clin Microbiol 2004; 42(7): 3077-3082.
31. Seifi N1, Kahani N, Askari E, Mahdipour S, Naderi NM. Inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates recovered from Mashhad, Iran. Iran J Microbiol. 2012;4(2):82-6.
32. 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.
33. Aktas Z, Aridogan A, Kayacan CB, Aydin D. Resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics in *staphylococci* isolated in Istanbul, Turkey. J Microbiol. 2007;45(4):286-90.
34. Shantala GB, Adithi SS, Rahul RK, Nagarathnamma T. Detection of inducible clindamycin resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* by the Disc Diffusion Induction Test. J Clinical and Diagnostic Research. 2011; 5(1): 35-37.
35. Ghanbari F1, Ghajavand H2, Havaei R3, Jami MS4, Khademi F5, Heydari L1, et al. Distribution of erm genes among *Staphylococcus aureus* isolates with inducible resistance to clindamycin in Isfahan, Iran. Adv Biomed Res. 2016 22;5:62.
36. Sedaghat H1, Esfahani BN1, Mobasherizadeh S2, Jazi AS1, Halaji M1, Sadeghi P1, et al. Phenotypic and genotypic characterization of macrolide resistance among *Staphylococcus aureus* isolates in Isfahan, Iran. Iran J Microbiol. 2017;9(5):264-270.
37. Moosavian M, Shoja S, Rostami S, Torabipour M, Farshadzadeh Z. Inducible clindamycin resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* due to erm genes, Iran. Iran J Med Microbiol 2014;6(6):421.
38. Zmantar T1, Chaieb K, Ben Abdallah F, Ben Kahla-Nakbi A, Ben Hassen A, Mahdouani K, et al. Multiplex PCR detection of the antibiotic resistance genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from auricular infections. Folia Microbiol (Praha). 2008;53(4):357-62.