گزارش کوتاه
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۴، فروردین ۱۳۹۴، ۸۲-۷۷

فراوانی مقاومت القائی نسبت به کلیندامایسین در استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس‌های کواگولاز منفی با استفاده از تست D: یک گزارش کوتاه

غلامرضا گودرزی[۱]، مژگان آزادپور[۲]

دریافت مقاله: ۹۳/۶/۳ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۳/۸/۲۵ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۳/۱۲/۲ پذیرش مقاله: ۹۳/۱۲/۳

چکیده

زمینه و هدف: تست D، با قرار دادن دیسک‌های حاوی کلیندامایسین و اریترومایسین در یک فاصله استاندارد بر روی پلیت آگار و مشاهده هاله عدم رشد پهن شده در اطراف دیسک کلیندامایسین انجام می‌گیرد. یک تست D مثبت، بر مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین دلالت داشته و همچنین، احتمال شکست درمانی این آنتی‌بیوتیک در بالین را پیشگویی می‌کند. هدف از این مطالعه، تعیین فراوانی مقاومت القایی استافیلوکوکی نسبت به کلیندامایسین با استفاده از تست D بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی- مقطعی، مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین، بر روی ۱۵۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس (n=۱۰۳) و استافیلوکوکوس کواگولاز منفی (n=۴۷) جمع‌آوری شده از بینی کارکنان و نمونه‌های بالینی با استفاده از تست D ارزیابی شد. داده‌ها با استفاده از آزمون کای اسکوئر مورد ارزیابی آماری قرار گرفتند.

یافته‌ها: از ۱۰۳ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس، ۲۲ (۲۱/۴٪) ایزوله مقاوم به متی سیلین بودند. در بین ایزوله‌های مورد آزمایش، ۳ (۲٪)، ۱ (۰/۶٪) و ۲ (۱/۳٪) ایزوله به ترتیب فنوتیپ D، +D و HD داشتند و ۵۴ (۳۶٪) ایزوله، به هر دو آنتی‌بیوتیک اریترومایسین و کلیندامایسین مقاومت نشان دادند. فراوانی مقاومت به کلیندامایسین و اریترومایسین بین ایزوله‌های مقاوم به متی سیلین و حساس به متی سیلین از نظر آماری معنادار بود (p<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: مقاومت فنوتیپی به اریترومایسین در همه موارد قابل تعمیم به کلیندامایسین نیست. بنابراین، ایزوله‌های استافیلوکوکوس مقاوم به اریترومایسین و حساس به کلیندامایسین باید با تست D مورد ارزیابی قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: مقاومت القایی، کلیندامایسین، استافیلوکوکوس اورئوس، تست D

۱- استادیار گروه آموزشی میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران
۲- (نویسنده مسئول) کارشناس ارشد میکروب‌شناسی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران
تلفن: ۳۳۱۴۰۰۵-۰۶۶، دورنگار: ۳۳۱۴۰۰۵-۰۶۶، پست الکترونیکی: mojganazadpour@yahoo.com

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1394.14.1.5.3]

مقدمه

هرچند آنتی‌بیوتیک‌های ماکرولیدی (از جمله اریترومایسین)، لینکوزامایدها (از جمله کلیندامایسین) و استرپتوگرامین‌های نوع B (Macrolides-Lincosamides-Streptogramins B=MLS_B) مهار کننده‌های سنتز پروتئین در باکتری‌ها می‌باشند؛ اما از نظر ساختمانی متفاوتند [۱]. شایع‌ترین روش مقاومت استافیلوکوک‌ها به MLS_B، از طریق متیله شدن جایگاه هدف آنها بر روی ریبوزوم (23S rRNA) توسط محصول ژن‌های erm (erythromycin ribosome methylase) انجام می‌گیرد [۲-۱]. حضور ژن‌های erm در استافیلوکوک‌ها، می‌تواند منجر به مقاومت ساختمانی و یا القایی در این باکتری‌ها گردد [۲-۱]. در ارزیابی حساسیت میکروبی به روش انتشار از دیسک، استافیلوکوک‌های با مقاومت ساختمانی، به اریترومایسین و کلیندامایسین مقاوم هستند، در حالی که ایزوله‌های با مقاومت القایی به اریترومایسین مقاوم اما به طور کاذبی نسبت به کلیندامایسین حساس دیده می‌شوند [۱]. روش استاندارد آزمایشگاهی برای ردیابی فنوتیپ مقاومت القایی به کلیندامایسین، استفاده از دو دیسک اریترومایسین و کلیندامایسین در کنار یکدیگر (تست D) می‌باشد [۲-۱]. دیسک اریترومایسین تولید متیلاز حاصل از ژن‌های erm را القا می‌کند، در نتیجه اگر هاله عدم رشد اطراف دیسک کلیندامایسین پهن و مسطح باشد (فنوتیپ D) دال بر حضور ژن erm جهش یافته‌ای است که می‌تواند به مقاومت ساختمانی نسبت به کلیندامایسین و شکست درمان منجر گردد [۲]. امروزه به دلیل استفاده گسترده و استقرار وسایل جایگزینی مصنوعی در بدن بیماران، عفونت‌های بیمارستانی ناشی از استافیلوکوکوس‌های کواگولاز منفی (Coagulase-Negative Staphylococci=CoNS) اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده‌اند. بخشی از این عفونت‌های فرصت طلب می‌توانند از طریق کارکنان به بیماران منتقل شده و به خصوص در بیماران مبتلا به بیماری‌های زمینه‌ای، عفونت‌های شدیدی ایجاد کنند [۳]. بنابراین، هدف از انجام این مطالعه، بررسی فنوتیپ‌های مختلف مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین در بین ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس و CoNS بوده است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مقطعی- توصیفی، بر اساس مطالعات قبلی و سطح اطمینان ۹۵٪ با استفاده از فرمول $n=z^2P(1-P)/d^2$ و خطای قابل قبول ۰/۰۵، تعداد ۱۰۳ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس و ۴۷ ایزوله استافیلوکوکوس کواگولاز منفی (CoNS) از بینی کارکنان و نمونه‌های بالینی از بیماران بستری در بیمارستان‌های شهرستان خرم آباد از اردیبهشت ماه تا دی ماه ۱۳۹۲ جمع‌آوری شده و با روش‌های استاندارد میکروب شناسی تعیین هویت گردیدند [۴]. به منظور ارزیابی مقاومت به متی‌سیلین، از دیسک سفوکسیتین (۳۰ میکروگرم) و همچنین، ارزیابی مقاومت القائی نسبت به کلیندامایسین، از دیسک‌های اریترومایسین (۱۵ میکروگرم) و کلیندامایسین (۲ میکروگرم) به روش انتشار از دیسک (تست D) مطابق دستورالعمل‌های CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) استفاده شد، به طوری که دیسک‌های کلیندامایسین و اریترومایسین، در فاصله استاندارد (۱۵ میلی‌متر) بر روی محیط مولر- هینتون آگار تقلیح شده با باکتری قرار گرفتند و پس از ۱۸ ساعت

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1394.14.1.5.3]

انکوباسیون پلیت‌ها در ۳۵ درجه سانتی‌گراد، هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها بررسی شد. مواردی که منطقه عدم رشد اطراف دیسک کلیندامایسین، در مجاورت با اریترومایسین به شکل پهن و مسطح مشاهده گردید به عنوان فنوتیپ D و مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین در نظر گرفته شد [۵]. کلیه داده‌ها با استفاده از آزمون کای اسکوئر مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و $p< ۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

نتایج آزمون حساسیت میکروبی با دیسک سفوکسیتین نشان داد از بین ۱۰۳ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس، ۲۲ (٪۲۱/۴) ایزوله مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus = MRSA) و ۸۱ (٪۷۸/۶) ایزوله حساس به متی‌سیلین (Methicillin-Susceptible S. Aureus = MSSA) بودند. با توجه به منطقه عدم رشد اطراف دو دیسک اریترومایسین و کلیندامایسین هفت الگوی فنوتیپی مشاهده شد که به تفکیک نوع ایزوله در جدول ۱ آورده شده است. از بین ایزوله‌های مورد آزمایش، سه ایزوله دارای فنوتیپ D بودند که دو ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس و یک ایزوله CoNS تشخیص داده شد (جدول ۱).

جدول ۱- توزیع انواع فنوتیپ های حساسیت به اریترومایسین و کلیندامایسین در بین ۱۵۰ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس کواگولاز منفی (CoNS)

فنوتیپ	استافیلوکوکوس اورئوس (n=۱۰۳)		CoNS (n=۴۷)	جمع (٪)
	MSSA* (n=۸۱)	MRSA (n=۲۲)		
فنوتیپ +D	۱	۰	۰	۱(۰/۶)
فنوتیپ HD	۰	۱	۱	۲(۱/۳)
فنوتیپ D	۰	۲	۱	۳(۲)
حساس به اریترومایسین و کلیندامایسین	۷۷	۲	۲	۸۱(۵۴)
مقاوم به اریترومایسین و کلیندامایسین	۲	۱۶	۳۶	۵۴(۳۶)
حساس به اریترومایسین و مقاوم به کلیندامایسین	۱	۰	۱	۲(۱/۳)
حساس به کلیندامایسین و مقاوم به اریترومایسین	۰	۱	۶	۷(۴/۶۶)

Abbreviations: MRSA, Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus; MSSA, Methicillin-susceptible S. Aureus; CoNS, Coagulase Negative-Staphylococci;
**** Chi-square, p< 0.05***

در فنوتیپ D، منطقه مهار رشد شفاف در اطراف دیسک کلیندامایسین با یک لبه پهن در مجاورت دیسک اریترومایسین مشاهده شد. یک ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس دارای فنوتیپ +D بود که در این فنوتیپ، منطقه مهار رشد دارای سطحی پهن در مجاورت دیسک اریترومایسین بود، اما کلنی‌های ریز مشخصی در منطقه

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1394.14.1.5.3]

مهاری دیسک کلیندامایسین وجود داشت. همچنین، دو ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس دارای فنوتیپ Hazy HD (D) بودند؛ در این فنوتیپ، علاوه بر رشد ضعیف یک دست در اطراف دیسک کلیندامایسین، یک لبه پهن نیز در مجاورت دیسک اریترومایسین دیده شد. پنجاه و چهار (۳۶٪) ایزوله فنوتیپ مقاوم به هر دو آنتی‌بیوتیک اریترومایسین و کلیندامایسین داشتند که ۱۶ مورد آنها MRSA بودند. نتایج مربوط به سایر فنوتیپ‌ها در جدول ۱ ذکر شده است. بر اساس نتایج آزمون کای اسکوئر، اختلاف مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های کلیندامایسین و اریترومایسین در بین ایزوله‌های MRSA و MSSA از نظر آماری معنادار بود ($p<۰/۰۵$).

بحث

نتایج بررسی مقاومت القایی در مطالعه ما نشان داد ۲٪ از ایزوله‌های استافیلوکوکوس دارای فنوتیپ D بودند. مطالعات انجام شده در سایر نقاط ایران، فراوانی فنوتیپ القایی D را از ۲۰/۷٪-۴/۷٪ متغیر گزارش کرده‌اند [۸-۶]. این تنوع در نقاط مختلف جغرافیایی، می‌تواند به دلیل تفاوت در پراکندگی ژن‌های مقاومت (erm) در هر منطقه، و همچنین، الگوی متفاوت مصرف و تجویز آنتی‌بیوتیک‌ها باشد. اگر چه این مطالعه برای اولین در استان لرستان، مقاومت القایی نسبت به کلیندامایسین را در شهرستان خرم‌آباد مورد بررسی قرار می‌دهد، ولی عدم تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC) برای آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین و کلیندامایسین، ارزیابی حضور ژن‌های دخیل (erm) به روش PCR [۱] و در نهایت، حجم نمونه محدود از محدودیت‌های این مطالعه بود. با توجه به سادگی تست و هزینه پایین انجام آن، توصیه می‌شود ردیابی مقاومت القائی نسبت به کلیندامایسین در آزمایشگاه‌های مراکز بهداشتی و درمانی در دستور کار قرار گیرد تا با شناسایی ایزوله‌های مقاوم و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های جایگزین در حذف آنها، از گسترش مقاومت به سایر باکتری‌ها ممانعت گردد.

نتیجه‌گیری

مقاومت فنوتیپی به اریترومایسین در همه موارد قابل تعمیم به کلیندامایسین نیست، بنابراین ایزوله‌های استافیلوکوکوس مقاوم به اریترومایسین و حساس به کلیندامایسین باید با تست D مورد ارزیابی قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در آزمایشگاه میکروب شناسی مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی انجام گرفته است. لذا نویسندگان، از کلیه همکاران حوزه معاونت پژوهشی و کارکنان مرکز تحقیقات تقدیر و تشکر می‌نمایند.

References

[1] Coutinho Vd LS, Paiva RM, Reiter KC, de-Paris F, Barth AL, Machado AB. Distribution of erm genes and low prevalence of inducible resistance to clindamycin among staphylococci isolates. *Braz J Infect Dis* 2010; 14(6): 564-8.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1394.14.1.5.3]

[2] Levin TP, Suh B, Axelrod P, Truant AL, 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.

[3] Otto M. *Staphylococcus epidermidis*–the "accidental" pathogen. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7(8): 555-67.

[4] Monson Linda S. Staphylococci. In: Textbook of diagnostic microbiology. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Maryland Heights: Saunders Elsevier Company 2011; p: 322-6.

[5] Clinical and laboratory Standards Institute (CLSI). M100-S21 Performance Standards for antimicrobial Susceptibility Testing 22nd informational supplement. Wayne (PA); CLSI, 2012.

[6] Nafisi MR, Shariaty L, Validi M, Karimi A. Prevalence of constitutive and inducible resistance to clindamycin in staphylococci isolates from Hajar and Kashani hospitals in Shahrekord, 2008; *J Shahrekord Univ Med Sci* 2010; 12(1): 13-20. [Farsi]

[7] Memariani M, Pourmand MR, Shirazi MH, Soltan Dallal MM, Abdossamadi Z, Mardani N. The importance of inducible clindamycin resistance in enterotoxin positive *S. aureus* isolated from clinical samples. *Tehran Univ Med J* 2009; 67(4): 250-6. [Farsi]

[8] Naderinasab M, Farshadzadeh Z, Yousefi F. Determine the inducible resistance phenotype in methicillin resistance *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci. *Iran J Med Microbiol* 2007; 1(3): 25-31. [Farsi]

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1394.14.1.5.3]

Prevalence of Clindamycin Inducible Resistance in *Staphylococcus Aureus* and Coagulase-Negative Staphylococci Using D-Test: A Short Report

Gh.R. Goudarzi[1], M. Azadpour[2]

Received: 25/08/2014 Sent for Revision: 16/11/2014 Received Revised Manuscript: 21/02/2015 Accepted: 22/02/2015

Background and Objective: The D-test is performed by placing clindamycin and erythromycin impregnated disks at a standard distance on the agar plate then looking for the flattening of inhibition zone around the clindamycin disk. A positive D-test indicates clindamycin inducible resistance and also predicts treatment failure possibility of this antibiotic in clinic. Prevalence of staphylococcal inducible resistance to clindamycin through the D-test was the aim of this study.

Materials and Methods: In this descriptive-cross-sectional study, inducible resistance to clindamycin was examined on the 150 *isolated Staphylococcus aureus* (n=103) and coagulase-negative staphylococci (n=47) collected from nasal employees and clinical samples by using D-test. The statistical analysis was performed using chi-square test.

Results: Out of 103 isolated *S. aureus*, 22 (21.4%) were methicillin-resistant (MRSA). Among the tested samples, 3(2%), 1(0.6%) and 2(1.3%) had D, D+ and HD phenotypes, respectively. Fifty-four (36%) of isolations exhibited resistance to both clindamycin and erythromycin. Prevalence of resistance to clindamycin and erythromycin between isolated MRSA and methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) was statistically significant ($p<0.05$).

Conclusion: Phenotypical resistance to erythromycin is not always attributable to clindamycin resistance. Therefore, staphylococcus strains resistant to erythromycin and susceptible to clindamycin should be subjected to D-test assay.

Key words: Inducible resistance, Clindamycin, *Staphylococcus aureus*, D-test

Funding: This research was funded by Lorestan University of Medical Sciences.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Lorestan University of Medical Sciences approved the study.

How to cite this article: Goudarzi Gh.R, Azadpour M. Prevalence of Clindamycin Inducible Resistance in *Staphylococcus Aureus* and Coagulase-Negative Staphylococci Using D-Test: A Short Report. *J RafsanjanUniv Med Sci* 2015; 14(1): 77-82. [Farsi]

1- Assistant Prof., Dept. of Microbiology, Faculty of medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran
2- MSc in Microbiology, Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran
(Corresponding Author) Tel: (066) 3314005, Fax(066) 3314005, E-mail: mojganazadpour@yahoo.com

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1394.14.1.5.3]