

تعیین ویژگی‌های مقاومت ماکرولیدی در استرپتوکوک پیوزن

خروش جوان^۱، دکتر فهیمه باغبانی آرani^{۲*}، کامبیز داوری^۳

۱. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان

۲. استادیار، گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوای

۳. مری، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنتندج

چکیده

سابقه و هدف: افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین سویه‌های استرپتوکوک پیوزن، یکی از معضلات جدی در سیستم سلامت می‌باشد. بر این اساس و با هدف بررسی نحوه مقاومت ماکرولیدی و ویژگی‌های فنوتیپی و ژنتیکی، ۴۰ جدایه استرپتوکوک پیوزن جمع‌آوری شده طی سال‌های ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: آنالیز میزان حساسیت سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های ماکرولیدی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن و مقاومت القایی به کلیندامايسین با D-TEST ارزیابی شد. همچنین، از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای شناسایی ژن‌های مقاومت ماکرولیدی، استفاده گردید.

یافته‌ها: مقاومت به اریترومايسین، آزیترومايسین، کلیندامايسین و کلاریترومايسین به ترتیب ۲۰٪، ۲۰٪، ۱۵٪ و ۱۰٪ بود. هیچ‌یک از سویه‌ها، به پنی‌سیلین مقاوم نبودند. از بین ۸ سویه استرپتوکوک پیوزن مقاوم به اریترومايسین، ۴ سویه فنوتیپ M و ۴ سویه فنوتیپ cMLSB مقاومت MLSB (macrolide, lincosamide and streptogramin B) را داشتند که خود مشتمل بر ۳ سویه مقاومت iMLSB (cMLSB و یک سویه مقاومت iMLSB) بودند. سویه‌های ermA و ermB به ترتیب دارای ژن ermA و ermB بودند. از ۱۶ سویه دارای مقاومت ماکرولیدی، ۵ سویه (۳۱٪) حامل ژن ermB و یک سویه (۶٪) حامل ژن ermA بود. این در حالی است که در PCR معلوم گردید که یکی از ایزوله‌های بدون مقاومت نیز حامل ژن ermB می‌باشد.

نتیجه‌گیری: مطالعه‌ی حاضر، فراوانی بالایی از مقاومت ماکرولیدی در استرپتوکوک پیوزن را در ایران، نشان می‌دهد. علاوه بر این، نتایج این مطالعه، کلیندامايسین و کلاریترومايسین را به عنوان داروی انتخابی جهت درمان افراد حساس به پنی‌سیلین معرفی می‌کند. همچنین نتایج این پژوهش، ارتباط بین فنوتیپ مقاومت به اریترومايسین و ژنتیک‌های erm را در سویه‌های استرپتوکوک پیوزن نشان می‌دهد.

واژگان کلیدی: پیوزن، مقاومت ماکرولیدی، ژن erm

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Javan K, Baghbani-Arani F, Davari K. Characterization of macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes*: prevalence, phenotype and genotype. Pejouhandeh 2015;20(1):45-50.

مقدمه

سنین نوجوانی و جوانی است که به طور متوسط ۱۵ تا ۲۰ درصد کودکان و کمتر از ۵ درصد بالغین، حاملین طبیعی و سالم این باکتری می‌باشند (۱). پنی‌سیلین، انتخاب اول درمان عفونت استرپتوکوکی است در حالی که ماکرولیدها در موارد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، انتخاب بعدی هستند. در عین حال، افزایش مقاومت به ماکرولیدها نیز امروزه درمان عفونت با استرپتوکوک پیوزن را دچار مشکل ساخته است (۲). مکانیسم اصلی مقاومت به ماکرولیدها در استرپتوکوک پیوزن شامل متیلاسیون نوکلئوتید حفاظت شده‌ی آدنین ۲۳SrRNA موقعیت ۲۰۵۸ در ناحیه‌ی پیتیدیل ترانسفراز

استرپتوکوک پیوزن یا استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A (Group A Beta Hemolytic Streptococcus-GABHs) باکتری گرم مثبت اغلب بی‌هوای اختیاری و پاتوژن بالقوه است که قادر به ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله فارنژیت حاد، اوتیت و گلومرولونفیریت حاد می‌باشد. گلودرد ناشی از استرپتوکوک پیوزن یکی از شایع‌ترین بیماری‌های

*نویسنده مسؤول مکاتبات: دکتر فهیمه باغبانی آرani؛ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوای، گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی؛ تلفن: ۰۰۲۱ ۳۶۷۲۵۰۱۰؛ پست الکترونیک: fbaghbani@iauvaramin.ac.ir

میکروگرم) تهیه شده از شرکت پادتن طب استفاده گردید و با اندازه‌گیری قطر هاله‌ی بازدارنده‌ی رشد با توجه به دستور شرکت سازنده، میزان حساسیت سویه‌ها تعیین گردید. همچنین، جهت تعیین فنوتیپ MLSB از روش D-TEST استفاده گردید، به این ترتیب که برای سویه‌های مقاوم به اریترومایسین، دیسک اریترومایسین (۱۵ میکروگرم) به فاصله‌ی ۲۰ میلی‌متری از دیسک کلیندامایسین (۲ میکروگرم) روی محیط مولر هینتون حاوی باکتری، قرار داده شد و انکوباسیون در شرایط مناسب رشد، صورت گرفت. مسطح شدن منطقه‌ی مهاری در اطراف دیسک کلیندامایسین که در مجاورت دیسک اریترومایسین قرار دارد (منطقه‌ی مهاری به شکل حرف D در می‌آید)، به عنوان نتیجه‌ی مثبت *S. pneumoniae* ATCC 49619 به عنوان کنترل، در بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی استفاده گردید.

به منظور تعیین ویژگی‌های ملکولی جدایه‌های استرپتوبکوک پیوژن، ابتدا استخراج DNA با استفاده از کیت DNA CinnaPure (سیناژن) انجام پذیرفت. برای بررسی کمی DNA استخراج شده، از اسپکتوفوتومتری در طول موج ۲۶۰ nm استفاده گردید تا غلظت DNA استخراج شده بر حسب ng/mL به دست آید. همچنین، برای تأیید کیفیت DNA، از نسبت جذب نوری DNA در طول موج ۲۶۰ nm نانومتر به ۲۸۰ نانومتر و نیز از الکتروفوروز DNA روی ژل٪۰.۸ استفاده شد.

برای بررسی حضور ژن‌های ermA و ermB در سویه‌های مورد مطالعه، طراحی پرایمرا با استفاده از نرم‌افزار Gene Runner صورت گرفت و صحت پرایمرا با استفاده از اطلاعات موجود در بانک ژن و نرم افزار BLAST تأیید گردید. در این مطالعه، طراحی پرایمرا به شکلی صورت گرفت که توالی پرایمراهای جلویی، اختصاصی برای هر ژن و پرایم عقبی، یکسان بودند (جدول ۱). سپس واکنش PCR جهت ارزیابی حضور این دو ژن در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام شد. هر واکنش PCR حاوی ۱/۵ میلی‌مولاو یون منیزیم (MgCl₂)، ۰.۰۲ میلی‌مولاو dNTPs، ۰.۱۵ میکروگرم از زنوم باکتری، ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase و ۰.۰۱ پیکوگرم از هر پرایم بود. PCR در شرایط دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمرا در ۵۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و تکثیر DNA در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه انجام شد. همچنین، دناتوراسیون اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه

است که توسط نوعی متیلاز کد شده از ژن ermB/A انجام می‌شود و موجب مقاومت مشترک به ماکرولیدها، لینکوزامیدها و استرپتوبکرامین B (فنوتیپ MLSB) می‌گردد. به عبارت دیگر، سویه‌های حاوی ژن ermB، مقاومت پایداری به این آنتی‌بیوتیک ها نشان می‌دهند (فنوتیپ cMLSB) ولی حضور ژن ermA، موجب مقاومت القایی به کلیندامایسین (فنوتیپ iMLSB) می‌گردد (۳).

از سوی دیگر، مشخص شده است که ژن‌های erm، Tn916 مرتبط می‌باشند که در نتیجه، امکان انتقال این ژن‌ها از طریق ترانسفورماتیون و یا کونژوگاسیون وجود دارد (۴). از آنجا که اطلاعات محدودی پیرامون ویژگی‌های فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت ماکرولیدی استرپتوبکوک پیوژن در ایران در دسترس می‌باشد و همچنین، توجه به الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در رژیمهای درمانی به دلیل افزایش مقاومت ماکرولیدی، ضرورت دارد، لذا مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین میزان شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی ماکرولیدی و شناسایی مکانیسم مقاومت ناشی از ژن erm سویه‌های استرپتوبکوک پیوژن جدا شده از بیماران شهر سنندج، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه، به صورت توصیفی- مقطعي، روی سویه‌های استرپتوبکوک پیوژن جدا شده از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌های آموزشی شهر سنندج، طی مدت یک سال (از ۱۳۹۲ تا ۱۳۹۳) انجام پذیرفت. نمونه‌گیری از بیماران با عالیم عفونت استرپتوبکوکی مراجعه کننده به بیمارستان انجام شد و داده‌های مربوط به سن، جنس، نوع نمونه و مدت بستری در بیمارستان نیز در پرسشنامه‌ی تنظیمي، ثبت گردید. شناسایي کلني‌های رشد يافته با استفاده از مورفولوژي کلني، هموليز بتا روی بلاد آگار حاوی خون گوسفندی ۰/۵٪، تست کاتالاز، رنگ آمیزی گرم و تست دیسک باسیتراسین (U/۰۰۴) انجام شد. سپس، کشت خالص سویه‌های تأیید شده تا قبل از انجام تست‌های مولکولی، در محیط حاوی گلیسرون در ۲۰ - درجه سانتی‌گراد، نگهداری گردید.

به منظور تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های استرپتوبکوک پیوژن، آنتی‌بیوگرام بر اساس استاندارد CLSI 2014 انجام گردید. برای این منظور، از دیسک آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، آزیترومایسین (۱۵ میکروگرم)، کلاریتromoایسین (۱۵ میکروگرم) و کلیندامایسین (۲

ثبت و اکنش PCR استفاده گردید. در نهایت، داده‌های SPSS Inc، (SPSS Inc) به دست آمده با استفاده از نرم افزار (Chicago, IL) و آزمون مربع کای، مورد آنالیز قرار گرفتند. سطح معنی‌داری آزمون‌ها، $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

و تکثیر نهایی واکنش در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت. واکنش PCR در ۳۵ سیکل انجام شد. سپس، محصولات PCR روی ژل آگارز ۱/۵٪ حاوی رنگ اتیدیوم بر ماید و تحت نور UV مورد آنالیز قرار گرفت. از سوش *S. pyogenes* PTCC:104030 به عنوان کنترل

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده جهت بررسی ژن erm در سویه‌های استرپتوکوک پیوژن.

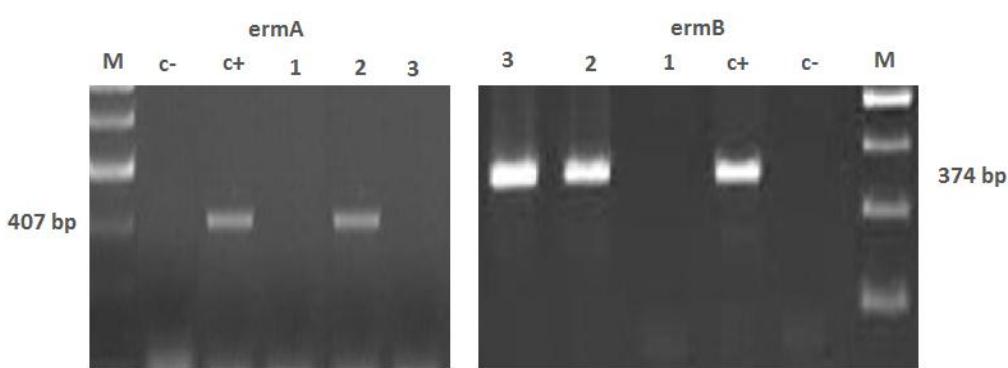
| اندازه قطعه (bp) | توالی پرایمر ۱' → ۵' | نام ژن |
|------------------|----------------------|--------------|
| ۴۰۷ | ATAAGTAAACAGGTAACGTC | ermA-forward |
| ۳۷۴ | GTCATCTATTCAACTTATCG | ermB-forward |
| | TTTATCTGGAACATCTGTG | erm-reverse |

این میزان تفاوت از نظر آماری، معنی‌دار بود ($P < 0.04$). از ۸ سویه‌ی مقاوم به اریترومایسین، یک سویه (۱۲/۵٪) فنوتیپ MLSB، سه سویه (۳/۷٪) فنوتیپ cMLSB و چهار سویه (۵/۰٪)، فنوتیپ M (حساس به کلیندامایسین) داشتند. به عبارتی، ۳ سویه‌ای که در آنتی‌بیوگرام، مقاوم به کلیندامایسین تشخیص داده شدند، دارای مقاومت پایدار (cMLSB) به این آنتی‌بیوتيک بوده و علاوه بر این، یک سویه در حضور اریترومایسین نیز می‌تواند مقاومت به کلیندامایسین را نشان دهد. سه سویه دارای فنوتیپ M، همان سویه‌هایی بودند که به سایر آنتی‌بیوتيک‌ها نیز مقاوم بودند.

شکل ۱ تکثیر موفق ژن‌های ermA/B با روش PCR را در استرپتوکوک پیوژن نشان می‌دهد. از ۱۶ ایزوله‌ی دارای مقاومت ماکرولیدی، ۵ مورد (۳/۱٪) حامل ژن ermB و یک مورد (۶/۰٪)، دارای ژن ermA می‌باشند. همچنین، ۱۰ نمونه از بین ۲۴ سویه که در نتیجه‌ی آنتی‌بیوگرام مقاومتی را نشان نداده بودند، تنها یک سویه دارای ژن ermB بوده و ۲۳ سویه‌ی دیگر، فاقد این دو ژن بودند. ویژگی‌های فنوتیپی و ژنوتیپی نمونه‌های مقاوم به ماکرولیدها در جدول ۲ نشان داده شده است.

یافته‌ها

از ۸۲۵ بیمار مورد بررسی، تعداد ۴۰ نمونه‌ی استرپتوکوک پیوژن جدا گردید. از بین سویه‌های جدا شده، ۲۸ مورد (۲۸/۷٪) از گلو، ۴ مورد (۱۰٪) از گوش، یک مورد (۲/۵٪) از پوست، ۵ مورد (۱۲/۵٪) از ادرار و ۲ مورد (۵٪) از خون جدا شد. میانگین سنی افراد مبتلا به عفونت استرپتوکوکی، ۹/۳ سال بود و تنها ۹ نفر بالای ۱۰ سال سن داشتند. به عبارت دیگر، بین سن کم و عفونت استرپتوکوکی، ارتباط معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.001$). همچنین، ۵۲/۵٪ افراد، مونث و ۴۷/۵٪ مذکر بودند که بین عفونت و جنس، ارتباط معنی‌داری وجود ندارد ($P = 0.785$). از مجموع ۴۰ نمونه‌ی ایزوله شده، تعداد ۱۶ مورد (۴۰٪)، حداقل به یکی از ماکرولیدهای مورد استفاده در آنتی‌بیوگرام مقاومت نشان دادند در حالی که هیچ‌یک از سویه‌ها، مقاومت به پنی‌سیلین را نشان نداد (جدول ۲). مقاومت به آنتی‌بیوتيک‌های اریترومایسین، آریترومایسین، کلیندامایسین و کلاریترومایسین به ترتیب ۲۰٪، ۲۰٪، ۱۵٪ و ۱۰٪ می‌باشد. سه سویه (۷/۵٪) استرپتوکوک پیوژن همزمان به بیش از یک آنتی‌بیوتيک (هر چهار آنتی‌بیوتيک) مقاوم بودند. میزان مقاومت در سویه‌های جدا شده از گلو (۳/۲٪) و در سویه‌های غیر فارنژیت (۵/۸٪) (۲۸ از ۱۲) بود که



شکل ۱. نتایج PCR ژن‌های ermB/A در سویه‌های استرپتوکوک پیوژن: c-: کنترل منفی، c+: کنترل مثبت، M: مارکر ۱۰۰ bp، نمونه شماره‌ی ۲ در تست ژن ermB مثبت و نمونه‌های ۱ و ۳، منفی می‌باشند. در آنالیز ژن ermB، نمونه‌ی ۱ منفی و نمونه‌های ۲ و ۳ مثبت می‌باشند.

جدول ۲. ویژگی‌های فنوتیپی و ژنوتیپی نمونه‌های مقاوم به ماکرولیدها.

| فتونتیپ* | | ژنوتیپ | | مقاومت آنتی‌بیوتیک | | | | تعداد | محل جداسازی |
|----------|-----------|-----------|----------|--------------------|--------------|-------------|--------------|-----------|-------------|
| M | iMLSB | cMLSB | ermA | ermB | آزیتروماپسین | کلیندماپسین | اریتروماپسین | | |
| ۲ (٪۲۵) | - | ۲ (٪۲۵) | - | ۳ (٪۱۸/۷) | ۶ (٪۳۷/۵) | ۳ (٪۱۸/۷) | ۴ (٪۲۵) | ۹ (٪۵۶/۲) | گلو |
| ۲ (٪۲۵) | - | ۱ (٪۱۲/۵) | - | ۲ (٪۱۲/۵) | ۲ (٪۱۲/۵) | ۱ (٪۱۲/۵) | ۳ (٪۱۸/۷) | ۵ (٪۳۱/۲) | ادرار |
| - | - | - | - | - | - | - | ۱ (٪۶/۳) | ۱ (٪۶/۲) | خون |
| - | ۱ (٪۱۲/۵) | - | ۱ (٪۶/۲) | - | - | - | - | ۱ (٪۶/۲) | گوش |
| ۴ (٪۵۰) | ۱ (٪۱۲/۵) | ۳ (٪۳۷/۵) | ۱ (٪۶/۲) | ۵ (٪۳۱) | ۸ (٪۵۰) | ۴ (٪۲۵) | ۶ (٪۳۷/۵) | ۱۶ | جمع کل |

* فنوتیپ MLSB فقط در نمونه‌های مقاوم به اریتروماپسین تعیین می‌گردد. بنابراین تعداد در نمونه کل، ۸ عدد بیان گردید.

استرپتوکوک پیوژن می‌باشد که خطر گسترش ژن‌های مقاومت را هر چه بیشتر متذکر می‌کند.

یکی از یافته‌های پژوهش حاضر، بالابودن مقاومت ماکرولیدی (حدود ۴۴٪) بین سویه‌های غیر فارنژیت می‌باشد. اگرچه این نتیجه، با یافته‌های چند مطالعه‌ی دیگر در این زمینه، همسو می‌باشد (۱۶، ۱۷)، اما در برخی بررسی‌ها نیز نتایج متفاوتی گزارش شده است. به عنوان مثال، Wu و همکاران در سال ۲۰۱۳ طی مطالعه‌ای که در کشور تایوان صورت گرفت، نشان دادند که تنها ۴/۸٪ از نمونه‌های غیر فارنژیت، مقاومت ماکرولیدی دارند (۱۸). این در حالی است که در یک مطالعه‌ی دیگر در سال ۲۰۰۷، هیچ نوع مقاومت ماکرولیدی در نمونه‌های تهاجمی، مشاهده نگردید (۱۹). با توجه به کم بودن تعداد نمونه‌های تهاجمی در این مطالعه، پیشنهاد می‌گردد بررسی‌های بیشتری روی سویه‌های غیر فارنژیت استرپتوکوک پیوژن و به ویژه جدادشده از مناطق دیگر ایران، انجام گردد.

در راستای پیشرفت‌های انجام شده در مطالعات مقاومت ماکرولیدی، تعیین مکانیسم مقاومت اهمیت به سزاوی داشته و اطلاعات اپیدمیولوژیک ارزشمندی پیرامون توزیع ژن‌های مقاومت و گسترش آنها، فراهم می‌کند. در همین ارتباط در مطالعه‌ی حاضر، سویه‌های استرپتوکوک پیوژن جدا شده از نمونه‌های بالینی از نظر حضور ژن erm و مکانیسم متیلاسیون 23SrRNA برای ایجاد مقاومت ماکرولیدی، مورد بررسی قرار گرفته و مشخص گردید که از بین سویه‌های دارای مقاومت ماکرولیدی، ۳۱٪ حامل ژن ermB و یک مورد (٪۶) دارای ژن ermA می‌باشد. این فراوانی، در کشور فرانسه ۵۲٪ برای ermA و ۱۵/۸٪ برای ermB (۱۱)، در آلمان ۳۷٪ برای ermB و ۱۳٪ برای ermA (۲۰) و در کره ۳۰٪ برای ermB و صفر درصد برای ermA (۲۱) بوده است. این یافته‌ها ضمن تأکید بر تفاوت توزیع این ژن‌ها در جمعیت‌های مختلف، نشان‌دهنده‌ی فراوانی کمتر ermA نسبت به ermB در همه‌ی جوامع می‌باشد. همچنین شایان ذکر است که در

بحث

مقاومت ماکرولیدی در بین استرپتوکوک‌ها مسأله کلینیکی مهمی است که در دنیا مطرح بوده و در بسیاری از موارد درمان عفونت‌های استرپتوکوکی را با شکست مواجه می‌کند. اولین گزارش مقاومت استرپتوکوک پیوژن در سال ۱۹۵۸ و در انگلستان گزارش شد (۵). پس از آن، در سال ۱۹۶۸ در آمریکا، گزارش مشابهی ارایه شد (۶). سپس، این نوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی روی GABHs ادامه یافت و امروزه اطلاعات وسیعی از این نوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی در دنیا در دسترس می‌باشد. مجموع این مطالعات نشان می‌دهد که الگوی مقاومت ماکرولیدی در استرپتوکوک پیوژن در جوامع مختلف، متفاوت است.

در برخی کشورها، فراوانی مقاومت، در سطح پایینی گزارش شده است. مثلاً در آمریکا حدود ۶٪ (۲)، صربستان ۶/۸٪ (۷)، رومانی ۵٪ (۸)، کره ۴/۶٪ (۹)، شیلی ۳/۵٪ (۱۰) و در فرانسه، ۳/۲٪ (۱۱) بوده است. این در حالی است که در برخی کشورها، فراوانی مقاومت، در سطح بالایی گزارش شده که از آن جمله می‌توان به چین ۹۶/۸٪ (۱۲)، هنگ کنگ ۲۸٪ (۱۳) و ایتالیا ۲۵٪ (۱۴) اشاره کرد. در ایران مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۵ در کرمان انجام شد که میزان مقاومت نسبت به اریتروماپسین را ۴۰٪ گزارش کرد (۴). در یک مطالعه در مشهد نیز در دو بازه‌ی زمانی مختلف، میزان مقاومت ۵۹ تا ۸۱٪ گزارش گردید (۱۵). مطالعه‌ی حاضر نیز میزان فراوانی مقاومت ماکرولیدی را ۴۰٪ نشان داد که در مجموع این نتایج، بیانگر میزان بالای مقاومت ماکرولیدی در استرپتوکوک پیوژن می‌باشد. همانطور که سasan و همکاران در ۲۰۱۱ نیز اشاره کرده‌اند، در حال حاضر نمی‌توان دلیل منطقی برای این فراوانی بالا در ایران را توضیح داد، به خصوص آن‌که مصرف آنتی‌بیوتیک‌های ماکرولیدی در انسان و دام در ایران، بسیار بالا نمی‌باشد (۱۶). نکته‌ی قابل توجه دیگر، مقاومت نسبت به ۴ آنتی‌بیوتیک به صورت همزمان در سه سویه

نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر که به منظور فراهم کردن اطلاعاتی پیرامون میزان مقاومت ماکرولیدی و ژن‌های مربوطه در سویه‌های استرپتوکوک پیوژنز جدا شده از منطقه‌ی کردستان انجام پذیرفت، نشان‌دهنده وجود پیوستگی بیم ژنوتیپ و فنوتیپ مقاومت در این سویه‌ها بود. از طرفی، فراوانی بالای مقاومت ماکرولیدی در سویه‌های استرپتوکوک پیوژنز بررسی شده در این مطالعه، بیانگر زیاد بودن این نوع مقاومت در ایران نسبت به سایر کشورها است. علاوه بر این، نتایج مطالعه‌ی حاضر، کلیندماسین و کلاریتروماسین را به عنوان داروی انتخابی جهت درمان افراد حساس به پنی‌سیلین معرفی می‌کند. همچنین نتایج این پژوهش، لزوم نظارت بیشتر روی سویه‌های مقاوم به اریتروماسین از نظر فنوتیپ MLSB را جهت ردیابی تغییر پروفایل مقاومتی استرپتوکوک پیوژنز در ایران متذکر شده و پیشنهاد می‌کند در صورت نیاز به استفاده از درمان با آنتی‌بیوتیک‌های ماکرولیدی، حتماً تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی قبل از تجویز، انجام شود.

مطالعه‌ی حاضر، یکی از نمونه‌های حساس نسبت به ماکرولیدها، در تست PCR حضور ژن ermB را نشان داد. این نتیجه بیانگر آن است که احتمالاً این ژن به علت جهش، غیر فعال شده و بنابراین نمونه‌ی مذکور به ماکرولیدها مقاومت نشان نمی‌دهد.

در این مطالعه، پیوستگی ژنوتیپ و فنوتیپ به خوبی مشاهده می‌شود، به طوری که سویه‌ی واحد فنوتیپ iMLSB ژن ermA را نیز حمل می‌کند و سویه‌های با فنوتیپ cMLSB نیز دارای ژن ermB می‌باشد. در عین حال، هیچ‌کدام از سویه‌ها، واحد هر دو ژن ermB و ermA را بودند. از طرف دیگر، سویه‌ی iMLSB که دارای ژن ermA بود، به جز اریتروماسین، نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها، حساسیت نشان داد. این در حالی بود که سه سویه‌ی cMLSB که واحد ژن ermB بودند، همان سویه‌هایی بودند که به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها نیز، مقاوم بودند. این نتایج با برخی مطالعات دیگر که تأکید می‌کنند حضور ژن ermB، مقاومت پایدار و وسیعی نسبت به ماکرولیدها ایجاد می‌کند، مطابقت دارد (۲۲، ۱۷). این نتایج، همچنین نشان می‌دهند که یک سویه در یک زمان مشخص، فقط یکی از ژن‌ها را حمل می‌کند.

REFERENCES

1. Cunningham MW. Pathogenesis of group a streptococcal infections. Clin Microbiol Rev 2000; 13: 470-511.
2. Green MD, Beall B, Marcon MJ. Multicentre surveillance of the prevalence and molecular epidemiology of macrolide resistance among pharyngeal isolates of group A streptococci in the USA. J Antimicrob Chemother 2006; 57: 1240-3.
3. Giovanetti E, Magi G, Brenciani A, Spinaci C, Lupidi R, Facinelli B, et al. Conjugative transfer of the erm(A) gene from erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* to macrolide-susceptible *S. pyogenes*, *Enterococcus faecalis* and *Listeria innocua*. J Antimicrob Chemother 2002; 50: 249-52.
4. Grosso MD, Camilli M, Barbabella G, Northwood JB, Farrell DJ, Pantosti A. Genetic Resistance elements carrying mef subclasses other than mef(A) in *Streptococcus pyogenes*. Antimicrob Chemother 2011; 55(7): 3226-30.
5. Lowbury EJL. Symposium on epidemiological risks of antibiotics. Hospital infections. Proc R Soc Med 1958; 51: 807-10.
6. Sanders E, Foster MT, Scott D. Group A beta-hemolytic streptococci resistant to erythromycin and lincomycin. N Engl J Med 1968; 278: 538-40.
7. Pavlovic L, Grego E, Sipetic-Grujicic S. Prevalence of macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes* collected in Serbia. Jpn J Infect Dis 2010; 63: 275-6.
8. Luca-Harari B, Straut M, Cretoiu S, Surdeanu M, Ungureanu V, van der Linden M, et al. Molecular characterization of invasive and noninvasive *Streptococcus pyogenes* isolates from Romania. J Med Microbiol 2008; 57: 1354-63.
9. Koh E, Kim S. Decline in erythromycin resistance in group A Streptococci from acute pharyngitis due to changes in the emm genotypes rather than restriction of antibiotic use. Korean J Lab Med 2010; 30: 485-90.
10. Rodriguez C, Rojas P, Wozniak A, Kalergis AM, Ceron I, Riedel I, et al. Resistance phenotypes and genotypes of *Streptococcus pyogenes* clinical isolates in Chile over a 10-year period. Rev Med Chil 2011; 139: 1143-9. (Full Text in Spanish)
11. Humières C, Cohen R, Levy C, Bidet P, Thollot F, Wollner A, et al. Decline in macrolide-resistant *Streptococcus pyogenes* isolates from French children. In J Med Microbiol 2012; 302: 300-3.
12. Chang H, Shen X, Fu Z, Liu L, Shen Y, Liu X, et al. Antibiotic resistance and molecular analysis of *Streptococcus pyogenes* isolated from healthy schoolchildren in China. Scand J Infect Dis 2010; 42: 84-9.

13. Canton R, Loza E, Morosini MI, Baquero F. Antimicrobial resistance amongst isolates of *Streptococcus pyogenes* and *Staphylococcus aureus* in the PROTEKT antimicrobial surveillance programme during 1999–2000. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50: 9-24.
14. Nabipoor F, Tayarzadeh MA. Beta hemolytic group A Streptococcal drug resistant to penicillin among asymptomatic carriers. *Tabib Sharq* 2005; 7(2): 131- 7. (Full Text in Persian)
15. Sasan MS, Riyahi Zanian F, Birjandi B, aderinasab M. Extremely high prevalence of erythromycin resistance of group A beta hemolytic Streptococci in Mashhad (Iran). *Iran J Pediatr* 2011; 21(1): 126-8.
16. Richter SS, Heilmann KP, Beekmann SE, Miller NJ, Miller AL, Rice CL, et al. Macrolide-resistant *Streptococcus pyogenes* in the United States, 2002–2003. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 599-608.
17. Michos AG, Bakoula CG, Braoudaki M, Koutouzi FI, Roma ES, Pangalis A, et al. Macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes*: prevalence, resistance determinants, and emm types. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 64: 295-9.
18. Wu PC, Lo MT, Chen SJ, Wang CC. Molecular characterization of Group A streptococcal isolates causing scarlet fever and pharyngitis among young children: A retrospective study from a northern Taiwan medical center, *J Microbiol Immunol Infect* 2013; 47(4): 304-7.
19. Jaggi P, Beall B, Rippe J, Tanz RR, Shulman ST. Macrolide resistance and emm type distribution of invasive pediatric group A streptococcal isolates: three-year prospective surveillance from a children's hospital. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26: 253-5.
20. Bley C, Linden M, Reinert RR. *mef(A)* is the predominant macrolide resistance determinant in *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* in Germany. *Int J Antimicrob Agents* 2011; 37(5): 425-31.
21. Koh EH, Kim S, Lee NY. Decrease of erythromycin resistance in group A streptococci by change of emm distribution. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61(4): 261-3.
22. Weber P, Filipecki J, Bingen E, Fitoussi F, Goldfarb G, Chauvin JP, et al. Genetic and phenotypic characterization of macrolide resistance in group A streptococci isolated from adults with pharyngotonsillitis in France. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48: 291-4.