پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال بیستم، شماره ۱، پی در پی ۱۰۳، صفحات ۴۵ تا ۵۰
فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۴

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۸/۱۴
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۱۲/۱۶

تعیین ویژگی‌های مقاومت ماکرولیدی در استرپتوکوک پیوژنز

*خروش جوان[۱]، دکتر فهیمه باغبانی آرانی[*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- پیشوا
۳. مربی، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج

چکیده

سابقه و هدف: افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین سویه‌های استرپتوکوک پیوژنز، یکی از معضلات جدی در سیستم سلامت می‌باشد. بر این اساس و با هدف بررسی نحوه‌ی مقاومت ماکرولیدی و ویژگی‌های فنوتیپی و ژنوتیپی، ۴۰ جدایه استرپتوکوک پیوژنز 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 کلیندامایسین با D-TEST ارزیابی شد. همچنین، از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای شناسایی ژن‌های مقاومت ماکرولیدی، استفاده گردید.

یافته‌ها: مقاومت به اریترومایسین، آزیترومایسین، کلیندامایسین و کلاریترومایسین به ترتیب ۲۰٪، ۲۰٪، ۱۵٪ و ۱۰٪ بود. هیچ‌یک از سویه‌ها، به پنی‌سیلین مقاوم نبودند. از بین ۸ سویه استرپتوکوک پیوژنز مقاوم به اریترومایسین، ۴ سویه فنوتیپ M و ۴ سویه فنوتیپ مقاومت MLSB (macrolide, lincosamide and streptogramin B) را داشتند که خود مشتمل بر ۳ سویه مقاومت cMLSB و یک سویه مقاومت iMLSB بودند. سویه های cMLSB و iMLSB به ترتیب دارای ژن ermB و ermA 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 پیوژنز را در ایران، نشان می‌دهد. علاوه بر این، نتایج این مطالعه، کلیندامایسین و کلاریترومایسین را به عنوان داروی انتخابی جهت درمان افراد حساس به پنی‌سیلین معرفی می‌کند. همچنین نتایج این پژوهش، ارتباط بین فنوتیپ مقاومت به اریترومایسین و ژنوتیپ‌های erm را در سویه‌های استرپتوکوک پیوژنز نشان می‌دهد.

واژگان کلیدی: پیوژنز، مقاومت ماکرولیدی، ژن erm، PCR

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

استرپتوکوک پیوژنز یا استرپتوکوک بتا همولیتیک گروه A (Group A Beta Hemolytic Streptococcus-GABHs) باکتری گرم مثبت اغلب بی‌هوازی اختیاری و پاتوژن بالقوه است که قادر به ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله فارنژیت حاد، اوتیت و گلومرولونفریت حاد می‌باشد. گلودرد ناشی از استرپتوکوک پیوژنز یکی از شایع‌ترین بیماری‌های 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 حالی‌که ماکرولیدها در موارد مقاومت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام، انتخاب بعدی هستند. در عین حال، افزایش مقاومت به ماکرولیدها نیز امروزه درمان عفونت با استرپتوکوک پیوژنز را دچار مشکل ساخته است (۲).

مکانیسم اصلی مقاومت به ماکرولیدها در استرپتوکوک پیوژنز شامل متیلاسیون نوکلئوتید حفاظت شده‌ی آدنین موقعیت ۲۰۵۸ در ناحیه‌ی پپتیدیل ترانسفراز 23SrRNA

*نویسنده مسؤول مکاتبات: دکتر فهیمه باغبانی آرانی؛ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوا، گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی؛ تلفن: ۳۶۷۲۵۰۱۰ (۰۲۱)؛
پست الکترونیک: fbaghbani@iauvaramin.ac.ir

است که توسط نوعی متیلاز کد شده از ژن ermB/A انجام می‌شود و موجب مقاومت مشترک به ماکرولیدها، لینکوزامیدها و استرپتوگرامین 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، با ترانسپوزون‌های خانواده‌ی Tn916 مرتبط می‌باشند که در نتیجه، امکان انتقال این ژن‌ها از طریق ترانسفورماسیون و یا کونژوگاسیون وجود دارد (۴). از آنجا که اطلاعات محدودی پیرامون ویژگی‌های فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت ماکرولیدی استرپتوکوک پیوژنز 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 در سویه‌های استرپتوکوک پیوژنز جدا شده از بیماران شهر سنندج، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه، به صورت توصیفی- مقطعی، روی سویه‌های استرپتوکوک پیوژنز 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 علایم عفونت استرپتوکوکی مراجعه‌کننده به بیمارستان انجام شد و داده‌های مربوط به سن، جنس، نوع نمونه و مدت بستری در بیمارستان نیز در پرسشنامه‌ی تنظیمی، ثبت گردید. شناسایی کلنی‌های رشد یافته با استفاده از مورفولوژی کلنی، همولیز بتا روی بلاد آگار حاوی خون گوسفندی ۵٪، تست کاتالاز، رنگ‌آمیزی گرم و تست دیسک باسیتراسین (۰/۰۴ U) انجام شد. سپس، کشت خالص سویه‌های تأیید شده تا قبل از انجام تست‌های مولکولی، در محیط حاوی گلیسرول در ۲۰ - درجه سانتی‌گراد، نگهداری گردید.

به منظور تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های استرپتوکوک پیوژنز، آنتی‌بیوگرام بر اساس استاندارد CLSI 2014 انجام گردید. برای این منظور، از دیسک آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، آزیترومایسین (۱۵ میکروگرم)، کلاریترومایسین (۱۵ میکروگرم) و کلیندامایسین (۲ 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 در نظر گرفته می‌شد. از باکتری *S. pneumonia* ATCC 49619 به عنوان کنترل، در بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی استفاده گردید.

به منظور تعیین ویژگی‌های ملکولی جدایه‌های استرپتوکوک پیوژنز، ابتدا استخراج DNA با استفاده از کیت DNA CinnaPure (سیناژن) انجام پذیرفت. برای بررسی کمی DNA استخراج شده، از اسپکتوفتومتری در طول موج ۲۶۰ nm استفاده گردید تا غلظت DNA استخراج شده برحسب ng/mL به‌دست آید. همچنین، برای تأیید کیفیت DNA، از نسبت جذب نوری DNA در طول موج ۲۶۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر و نیز از الکتروفورز DNA روی ژل ۰/۸٪ استفاده شد.

برای بررسی حضور ژن‌های ermB و ermA در سویه‌های مورد مطالعه، طراحی پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار Gene Runner صورت گرفت و صحت پرایمرها با استفاده از اطلاعات موجود در بانک ژن و نرم افزار BLAST تأیید گردید. در این مطالعه، طراحی پرایمرها به شکلی صورت گرفت که توالی پرایمرهای جلویی، اختصاصی برای هر ژن و پرایمر 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 میلی‌مولار یون منیزیم ($MgCl_2$)، ۰/۲ میلی‌مولار dNTPs، ۴۰ نانوگرم از ژنوم باکتری، ۱ واحد آنزیم *Taq* DNA Polymerase و ۱۵ پیکوگرم از هر پرایمر بود. PCR در شرایط دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمرها 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

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 برماید و تحت نور UV مورد آنالیز قرار گرفت. از سوش *S. pyogenes* PTCC:104030 به عنوان کنترل مثبت واکنش PCR استفاده گردید. در نهایت، داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS (SPSS Inc, Chicago, IL) و آزمون مربع کای، مورد آنالیز قرار گرفتند. سطح معنی‌داری آزمون‌ها، P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

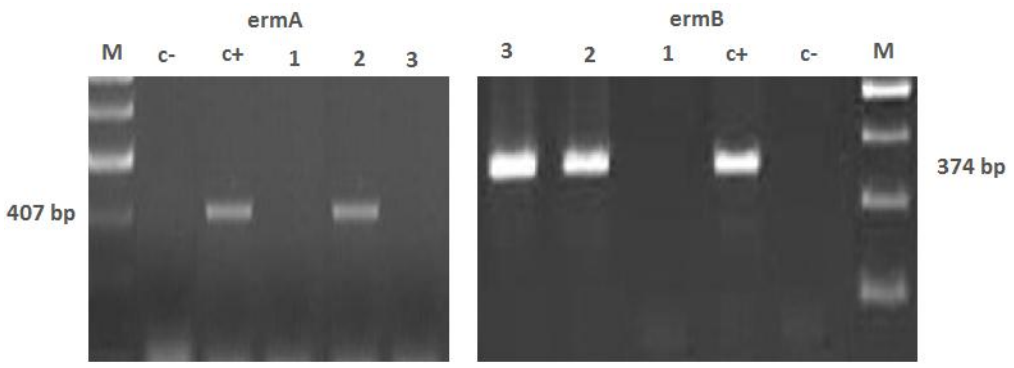
جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده جهت بررسی ژن erm در سویه‌های استرپتوکوک پیوژنز.

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

یافته‌ها

از ۸۲۵ بیمار مورد بررسی، تعداد ۴۰ نمونه‌ی استرپتوکوک پیوژنز جدا گردید. از بین سویه‌های جدا شده، ۲۸ مورد (۷۰٪) 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<۰/۰۱). همچنین، ۵۲/۵٪ افراد، مونث و ۴۷/۵٪، مذکر بودند که بین عفونت و جنس، ارتباط معنی‌داری وجود ندارد (P=۰/۷۵). از مجموع ۴۰ نمونه‌ی ایزوله شده، تعداد ۱۶ مورد (۴۰٪)، حداقل به یکی از ماکرولیدهای مورد استفاده در آنتی‌بیوگرام مقاومت نشان دادند در حالی‌که هیچ‌یک از سویه‌ها، مقاومت به پنی‌سیلین را نشان نداد (جدول ۲). مقاومت به آنتی‌بیوتیکهای اریترومایسین، آزیترومایسین، کلیندامایسین و کلاریترومایسین به ترتیب ۲۰٪، ۲۰٪، ۱۵٪ و ۱۰٪ می‌باشد. سه سویه (۷/۵٪) استرپتوکوک پیوژنز همزمان به بیش از یک آنتی‌بیوتیک (هر چهار آنتی‌بیوتیک) مقاوم بودند. میزان مقاومت در سویه‌های جدا شده از گلو ۳۲٪ (۹ از ۲۸) و در سویه‌های غیر فارنژیت ۵۸٪ (۷ از ۱۲) بود که این میزان تفاوت از نظر آماری، معنی‌دار بود (P<۰/۰۴). از ۸ سویه‌ی مقاوم به اریترومایسین، یک سویه (۱۲/۵٪) فنوتیپ iMLSB، سه سویه (۳۷/۵٪) فنوتیپ cMLSB و چهار سویه (۵۰٪)، 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 آنتی‌بیوتیک بوده و علاوه بر این، یک سویه در حضور اریترومایسین نیز می‌تواند مقاومت به کلیندامایسین را نشان دهد. سه سویه دارای فنوتیپ cMLSB، همان سویه‌هایی بودند که به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها نیز مقاوم بودند.

شکل ۱ تکثیر موفق ژن‌های ermA/B با روش PCR را در استرپتوکوک پیوژنز نشان می‌دهد. از ۱۶ ایزوله‌ی دارای مقاومت ماکرولیدی، ۵ مورد (۳۱٪) حامل ژن ermB و یک مورد (۶٪)، دارای ژن ermA می‌باشند. همچنین، ۱۰ نمونه (۶۲/۵٪)، هیچ‌یک از دو ژن ermA/B را نداشتند. همچنین 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.



شکل ۱. نتایج PCR ژن‌های ermB/A در سویه های استرپتوکوک پیوژنز -c: کنترل منفی، +c: کنترل مثبت، M: مارکر bp ۱۰۰، نمونه‌ی شماره‌ی ۲ در تست ژن ermA 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.

محل جداسازی	تعداد	مقاومت آنتی بیوتیک				ژنوتیپ		فنوتیپ*	
		اریترومایسین	کلیندامایسین	کلاریترومایسین	آزیترومایسین	ermB	ermA	cMLSB	iMLSB	M
گلو	۹ (٪۵۶/۲)	۴ (٪۲۵)	۳ (٪۱۸/۷)	۳ (٪۱۸/۷)	۶ (٪۳۷/۵)	۳ (٪۱۸/۷)	-	۲ (٪۲۵)	-	۲ (٪۲۵)
ادرار	۵ (٪۳۱/۲)	۳ (٪۱۸/۷)	۲ (٪۱۲/۵)	۱ (٪۶/۲)	۲ (٪۱۲/۵)	۲ (٪۱۲/۵)	-	۱ (٪۱۲/۵)	-	۲ (٪۲۵)
خون	۱ (٪۶/۲)	-	۱ (٪۶/۳)	-	-	-	-	-	-	-
گوش	۱ (٪۶/۲)	۱ (٪۶/۲)	-	-	-	-	۱ (٪۶/۲)	-	۱ (٪۱۲/۵)	-
جمع کل	۱۶	۸ (٪۵۰)	۶ (٪۳۷/۵)	۴ (٪۲۵)	۸ (٪۵۰)	۵ (٪۳۱)	۱ (٪۶/۲)	۳ (٪۳۷/۵)	۱ (٪۱۲/۵)	۴ (٪۵۰)

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

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 پیوژنز 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 پیوژنز 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٪ (۱۳) اشاره کرد. در ایران مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۵ در کرمان انجام شد که میزان مقاومت نسبت به اریترومایسین را ۴۰٪ گزارش کرد (۱۴). 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 پیوژنز می‌باشد. همانطور که ساسان 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 (۱۵). نکته‌ی قابل توجه دیگر، مقاومت نسبت به ۴ آنتی‌بیوتیک به صورت همزمان در سه سویه‌ی استرپتوکوک پیوژنز می‌باشد که خطر گسترش ژن‌های مقاومت را هر چه بیشتر متذکر می‌کند.

یکی از یافته‌های پژوهش حاضر، بالا بودن مقاومت ماکرولیدی (حدود ۴۴٪) بین سویه‌های غیر فارنژیت می‌باشد. اگرچه این نتیجه، با یافته‌های چند مطالعه‌ی دیگر در این زمینه، همسو می‌باشد (۱۷،۱۶)، 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 غیرفارنژیت، 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 پیوژنز و به‌ویژه جداشده از مناطق دیگر ایران، انجام گردد.

در راستای پیشرفت‌های انجام شده در مطالعات مقاومت ماکرولیدی، تعیین مکانیسم مقاومت اهمیت به سزایی داشته و اطلاعات اپیدمیولوژیک ارزشمندی پیرامون توزیع ژن‌های مقاومت و گسترش آنها، فراهم می‌کند. در همین ارتباط در مطالعه‌ی حاضر، سویه‌های استرپتوکوک پیوژنز 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 می‌باشند. این فراوانی، در کشور فرانسه ۵۲٪ برای ermB و ۱۵/۸٪ برای ermA (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

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 واجد فنوتیپ iMLSB، ژن ermA را نیز حمل می‌کند و سویه‌های با فنوتیپ cMLSB نیز دارای ژن ermB می‌باشد. در عین حال، هیچ‌کدام از سویه‌ها، واجد هر دو ژن ermA و ermB نبودند. از طرف دیگر، سویه‌ی iMLSB که دارای ژن ermA بود، به جز اریترومایسین، نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها، حساسیت نشان داد. این در حالی بود که سه سویه‌ی cMLSB که واجد 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.

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، نشان‌دهنده‌ی 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، کلیندامایسین و کلاریترومایسین را به عنوان داروی انتخابی جهت درمان افراد حساس به پنی‌سیلین معرفی می‌کند. همچنین نتایج این پژوهش، لزوم نظارت بیشتر روی سویه‌های مقاوم به اریترومایسین 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.

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 noninvasi1e *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 Shargh 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. Diagno 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 Immun 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 Antimicrobiol 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. Jap 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.