مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی‌ام/شماره ۱۷۶/هفته دوم فروردین ماه ۱۳۹۱

مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۵ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۰/۳۰

ارزیابی شیوع ژن‌های pbp1a، pbp2x و pbp2b در ایجاد مقاومت به پنی‌سیلین در سویه‌های Streptococcus pneumoniae جدا شده از بخش‌های مراقبت ویژه

دکتر محمد کارگر[۱]، مریم باقرنژاد[۲]، صادق قربانی دالینی[۳]

چکیده

مقدمه: یکی از مسایل اصلی قابل توجه در مورد Streptococcus pneumoniae (S. pneumoniae) ظهور مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها به ویژه پنی‌سیلین است. هدف از این پژوهش ارزیابی نقش ژن‌های متصل شونده به پنی‌سیلین در مقاومت به پنی‌سیلین در سویه‌های S. pneumoniae جدا شده از بخش مراقبت‌های ویژه بود.

روش‌ها: این پژوهش یک بررسی مقطعی–توصیفی بود که بر روی ۶۲ سویه‌ی مشکوک به S. pneumoniae جدا شده از بیماران بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه بیمارستان‌های نمازی و شهید فقیهی شیراز از سال ۱۳۸۸ تا ۱۳۸۹ انجام شد. در ابتدا کلنی‌های مشکوک با استفاده از تست‌های فنوتیپی و بیوشیمیایی تعیین هویت مقدماتی شدند. تأیید سویه‌های جداسازی شده بر اساس وجود ژن lytA انجام گرفت. مقاومت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش استاندارد دیسک دیفیوژن CLSI (Clinical and laboratory standard institute) انجام شد. مقاومت مولکولی نسبت به پنی‌سیلین با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن‌های pbp1a (Penicillin-binding protein 1a)، pbp2b (Penicillin-binding protein 2b) و pbp2x (Penicillin-binding protein 2x) انجام شد.

یافته‌ها: از مجموع نمونه‌های مورد بررسی، در ۵۰ مورد (۸۰/۶۴ درصد) S. pneumoniae با استفاده از آزمون Polymerase chain reaction (PCR) تأیید گردید. از S. pneumoniaeهای جدا شده، ۲۰ سویه (۴۰ درصد) نسبت به پنی‌سیلین حساس، ۱۰ سویه (۲۰ درصد) نیمه حساس و ۲۰ سویه (۴۰ درصد) مقاوم بودند. در ارزیابی سویه‌های نیمه حساس و مقاوم ۶ مورد (۲۰ درصد) دارای ژن pbp1a و ۱ مورد (۳/۳۳ درصد) ژن pbp2x بودند. ژن pbp2b در هیچ کدام از سویه‌ها شناسایی نشد.

نتیجه‌گیری: به‌دلیل فراوانی اندک ژن‌های مقاومت pbps ارزیابی سایر مکانیسم‌های مولکولی مقاومت به پنی‌سیلین پیشنهاد می‌گردد.

واژگان کلیدی: Streptococcus pneumoniae، مقاومت به پنی‌سیلین، پروتئین باند شونده به پنی‌سیلین

مقدمه

Streptococcus pneumoniae (S. pneumoniae) عامل اصلی عفونت‌هایی مانند ذات‌الریه باکتریایی و یکی از عوامل عمده‌ی بیماری‌های عفونی منجر به مرگ در اغلب کشورها است. در برخی از کشورهای پیشرفته‌ی دنیا مانند ایالات متحده، تعداد مرگ و میر ناشی از ذات‌الریه پنموکوکی بیشتر از بیماری ایدز می‌باشد. مرکز کنترل بیماری‌ها تخمین زده است که تنها در کشور یاد شده سالیانه ۵۰۰ هزار مورد از موارد ذات‌الریه و ۵۰ هزار مورد از موارد باکتریمی به وسیله‌ی S. pneumoniae ایجاد می‌شود. اما متأسفانه تلفات این بیماری در سایر کشورها بیشتر از این میزان می‌باشد. مهم‌ترین عوامل بیماری‌زایی شناخته شده این باکتری کپسول، اجزای دیواره‌ی سلولی، پروتئین

[۱] دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه میکروبیولوژی، جهرم، ایران
[۲] کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه میکروبیولوژی، جهرم، ایران
[۳] کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، باشگاه پژوهشگران جوان، جهرم، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر محمد کارگر
Email: mkargar@jia.ac.ir

www.mui.ac.ir

سطحی A (Pneumococcal surface protein A یا PspA)، هیالورونات لیاز (Hly)، نمولیزین (Ply)، نوروآمینیداز (Nan)، اتولیزین (LytA) و پروتئین متصل شونده به کولین (CbA) می‌باشد (۳-۱). یکی از اولین موفقیت‌های عصر آنتی‌بیوتیک‌ها، اثبات درمان موفقیت‌آمیز ذات‌الریه‌ی پنموکوکی با پنی‌سیلین بوده است. به همین دلیل نیز پزشکان در ابتدا لقب داروی معجزه‌گر را به آن دادند. پنی‌سیلین داروی انتخابی عفونت‌های پنموکوکی می‌باشد. در گذشته تمامی سویه‌های S. pneumoniae نسبت به پنی‌سیلین و سایر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام حساس بودند. به دنبال اولین مورد گزارش مقاومت در سال ۱۹۷۶ از کشور استرالیا، در سه دهه‌ی اخیر شیوع مقاومت نسبت به پنی‌سیلین به سرعت افزایش یافته است. همچنین اولین بار مقاومت چند دارویی در این باکتری در سال ۱۹۷۷ در آفریقای جنوبی گزارش گردید و سپس در سایر مناطق دنیا نیز S. pneumoniae مقاوم به پنی‌سیلین (PRSP یا Penicillin resistant Streptococcus pneumoniae) شایع شد. یکی از مهم‌ترین مشکلات سویه‌های PRSP، مقاومت نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها است (۵-۴). در حال حاضر، هیچ نوع فعالیت بتالاکتامازی در S. pneumoniae شناسایی نشده است. اما مکانیسم اصلی مقاومت به پنی‌سیلین تغییر تمایل یا میزان اسیلاسیون پروتئین‌های متصل شونده به پنی‌سیلین (Penicillin binding proteins یا PBPs) می‌باشد. نقش این پروتئین‌ها کاتالیز مراحل انتهایی ساخت پپتیدوگلیکان دیواره‌ی سلولی باکتری است. به همین دلیل با تغییر ساختار این پروتئین‌ها، باکتری نسبت به اثر مهاری پنی‌سیلین مقاوم می‌شود. تاکنون، شش نوع PBPs (pbp1a، pbp1b، pbp2x، pbp2a، pbp2b و pbp3) در سویه‌های حساس به پنی‌سیلین شناسایی شده است. ایجاد جهش در ژن‌های pbp1a، pbp2x و pbp2b، اصلی‌ترین و مهم‌ترین مکانیسم شناخته شده‌ی مقاومت به پنی‌سیلین محسوب می‌شود (۶). هدف از این پژوهش، تعیین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی و شناسایی مکانیسم مقاومت به پنی‌سیلین در سویه‌های S. pneumoniae جدا شده از بخش مراقبت‌های ویژه (Intensive care unit یا ICU) بیمارستان‌های نمازی و شهید فقیهی شهر شیراز بود.

روش‌ها

این پژوهش به صورت مقطعی-توصیفی بر روی ۶۲ سویه مشکوک به S. pneumoniae جدا شده از بیماران بستری در بخش‌های ICU بیمارستان‌های نمازی و شهید فقیهی شیراز از سال ۱۳۸۸ تا ۱۳۸۹ پس از کسب موافقت از کمیته‌ی اخلاق پزشکی دانشگاه به مدت یک سال انجام شد. این بیماران به دلیل عفونت‌هایی مانند ذات الریه، باکتریمی و مننژیت در این بخش‌ها بستری شده بودند. نمونه‌های جمع‌آوری شده شامل مایع مغزی نخاعی (Cerebrospinal fluid یا CSF)، خلط، خون، گلو و مایع ششی بودند. به منظور جداسازی S. pneumoniae، نمونه‌ها بر روی محیط Blood agar حاوی ۵ درصد خون گوسفند کشت و در حرارت ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه گذاری گردید.

شناسایی مقدماتی کلنی‌های رشد یافته با استفاده از مشخصات کلنی، نوع همولیز، رنگ‌آمیزی گرم، تست اپتچین و حلالیت در صفرا انجام شد. به منظور تکثیر ژن lytA و تأیید سویه‌های جدا شده

www.mui.ac.ir

جدول ۱. پرایمرهای اختصاصی به منظور تکثیر ژن‌های pbp1a، pbp2x و pbp2b

ژن	پرایمر	آمپلیکون (bp)
pbp1a	F : 5'-AAACAAGGTCGGACTCGTGCG-3' R : 5'- ATATACATTGGTTTATAGTAAGTT 3	۱۹۵
pbp2x	F : 5'- CCAGGTTCCACTATGAAAGTG-3' R : 5'- ATCCAACGTTACTTGAGTGT-3'	۲۰۳
pbp2b	F : 5'- CCTATATGGTCCAAACAGCCT-3' R : 5'- GGTCAATTCCTGTCGCAGTA-3'	۱۴۷

lytA-R آزمون PCR (Polymerase chain reaction) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی lytA-F (5'-CAACCGTACAGAATGAAGCGG-3') و (5'-TTATTCGTGCAATACTCGTGCG-3') انجام شد (۷). همچنین برای شناسایی مقاومت نسبت به pbps از پرایمرهای اختصاصی pbp1a، pbp2x و pbp2b (جدول ۱) به منظور ایجاد آمپلیکون‌های ۱۹۵، ۲۰۳ و ۱۴۷ جفت بازی استفاده گردید (۷).

روش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Biometra) با شرایط ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه (واسرشت ابتدایی) و در ادامه ۳۰ چرخه شامل ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه (واسرشت شدن)، ۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه (اتصال پرایمر) و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه (گسترش پرایمر) و در نهایت ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه (گسترش نهایی) انجام شد. برای این منظور ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X، ۱ میکرولیتر $MgCl_2$ (۵۰ میلی‌مولار)، ۲ میکرولیتر dNTPs (۱۰ میلی‌مولار)، ۲/۵ میکرولیتر از هر پرایمر (۱۰ میلی‌مولار) و ۱۶/۷ میکرولیتر آب مقطر اضافه شد. در مرحله‌ی آخر ۱۰ میکرولیتر محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد واجد اتیدیوم بروماید منتقل و پس از الکتروفورز به وسیله‌ی دستگاه ترانس الیمیناتور مورد بررسی قرار گرفت.

پس از شناسایی و تأیید هویت کلنی‌های S. pneumoniae (۸) آنتی‌بیوگرام با روش استاندارد (Clinical and laboratory standards institute) CLSI انجام گردید. میزان حساسیت کلنی‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، کلرآمفنیکل (۳۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، استرپتومایسین (۱۰ میکروگرم)، تتراسیکلین (۳۰ میکروگرم)، جنتتامایسین (۱۰ میکروگرم)، تری‌متوپریم- سولفومتاکسازول (۳۲/۷۵ : ۱/۲۵ میکروگرم)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ واحد)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، کلاریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، آزیترومایسین (۱۵ میکروگرم) و لووفلوکسازین (۵ میکروگرم) با اندازه‌گیری قطر هاله‌ی بازدارنده‌ی رشد با توجه به دستور شرکت سازنده‌ی دیسک (پادتن طب، ایران) ارزیابی شد. سپس نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۴ (version 14, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد بررسی قرار گرفت. سطح معنی‌داری در $P < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از ۶۲ نمونه‌ی مشکوک، ۵۰ سویه (۸۰/۶۴ درصد) S. pneumoniae با استفاده از تست‌های فنوتیپی،

www.mui.ac.ir

بیوشیمیایی و مولکولی (ژن lytA) شناسایی گردید.

از جدایه‌های تأیید شده ۳۸ مورد (۷۶ درصد) مربوط به جنس مذکر با میانگین سنی ۳۵ سال و ۱۲ مورد (۲۴ درصد) مربوط به جنس مؤنث با میانگین سنی ۳۶ سال بود. در کل بیماران محدوده‌ی سنی ۲۰ روز تا ۸۷ سال را داشتند. بیشتر این بیماران در گروه‌های سنی ۲۰ تا ۳۰ سال و ۳۰ تا ۴۰ سال (۶۰ درصد) و کمترین آن‌ها در گروه سنی ۷۰ تا ۸۰ سال (۴ درصد) قرار داشتند. مدت زمان بستری شدن بیماران بین ۶ تا ۸۷ روز با میانگین ۲۶ روز بود.

از افراد مورد پژوهش ۱۱ مورد منجر به فوت و در ۳۹ مورد نیز بهبود بیماری وجود داشت. با روش استاندارد دیسک دیفیوژن میزان مقاومت به آمپی‌سیلین ۵۶ درصد، کلرآمفنیکل ۰ درصد، آمیکاسین ۰ درصد، سفوتاکسیم ۵۰ درصد، استرپتومایسین ۰ درصد، تتراسیکلین ۱۰ درصد، جنتامایسین ۰ درصد، تری‌متوپریم- سولفومتاکسازول ۴۸ درصد، نالیدیکسیک اسید ۱۶ درصد، اریترومایسین ۱۸ درصد، کلاریترومایسین ۴۸ درصد، آزیترومایسین ۴۴ درصد، لووفلوکسازین ۴ درصد و پنی سیلین ۶۰ درصد شناسایی گردید.

در جدول ۲ فراوانی گروه‌های مختلف بیماری و ژنوتیپ‌های pbps شناسایی شده در جدایه‌های S. pneumoniae بخش مراقبت‌های ویژه نشان داده شده است.

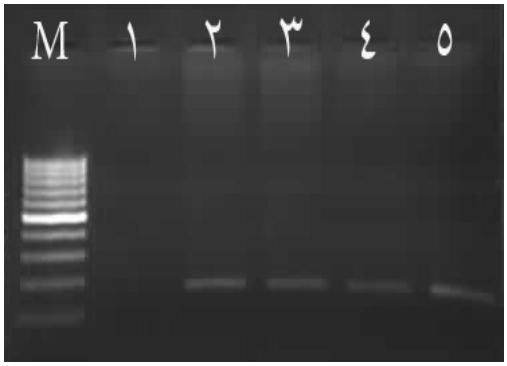
ژن pbp1a در ۶ سویه (۲۰ درصد) و ژن pbp2x در ۱ سویه (۳/۳۳ درصد) دیده شدند و ژن pbp2b در هیچ‌کدام از سویه‌های جدا شده شناسایی نگردید (اشکال ۱ و ۲).

با آنالیز آماری مشخص شد که بین بیماری‌های یاد شده و ژنوتیپ‌های مورد بررسی ارتباط معنی‌داری وجود نداشت. همچنین با آزمون χ^2 مشخص شد که بین مقاومت به پنی‌سیلین و ژن‌های pbp1a، pbp2b و pbp2x ارتباط معنی‌داری وجود ندارد.

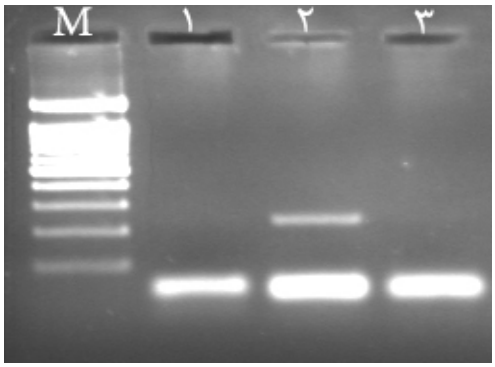
جدول ۲. فراوانی بیماری و ژنوتایپ pbps در سویه‌های Streptococcus pneumoniae جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه

بیماری	مقاوم به پنی‌سیلین				حساس به پنی‌سیلین	جمع
	pbp1a	pbp2b	pbp2x	نامشخص		
ذات‌الریه	۲ (۴)	۱ (۲)	۰ (۰)	۵ (۱۰)	۹ (۱۸)	۱۷ (۳۴)
تب با منشأ نامعلوم	۲ (۴)	۰ (۰)	۰ (۰)	۲ (۴)	۲ (۴)	۶ (۱۲)
برونشیت و بیماری‌های تنفسی	۱ (۲)	۰ (۰)	۰ (۰)	۲ (۴)	۲ (۴)	۵ (۱۰)
منتژیت	۱ (۲)	۰ (۰)	۰ (۰)	۲ (۴)	۰ (۰)	۳ (۶)
دیابت	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۳ (۶)	۳ (۶)	۶ (۱۲)
شیمی‌درمانی	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۲)	۰ (۰)	۱ (۲)
کم خونی داسی و بیماری قلبی	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۲ (۶)	۱ (۲)	۳ (۶)
بیماری نقص ایمنی	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۳ (۶)	۰ (۰)	۳ (۶)
سندرم نفریتیک و نارسایی مزمن کلیوی	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۲ (۴)	۲ (۴)	۴ (۸)
برداشت طحال	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۲)	۱ (۲)	۲ (۴)
جمع کل	۶ (۱۲)	۱ (۲)	۰ (۰)	۲۳ (۴۶)	۲۰ (۴۰)	۵۰ (۱۰۰)

www.mui.ac.ir



شکل ۱. قطعات ۱۹۵ جفت بازی حاصل از تکثیر ژن pbp1a:
ردیف ۱) شاهد منفی، ۲) شاهد مثبت، ۵-۳) نمونه‌های مثبت و M) سایز مارکر bp ۱۰۰



شکل ۲. قطعه‌ی ۲۰۳ جفت بازی حاصل از تکثیر ژن pbp2x:
ردیف ۱) کنترل منفی، ۲) نمونه‌ی مثبت ۳) نمونه‌ی منفی و M) سایز مارکر bp ۱۰۰

بحث

S. pneumoniae یکی از عوامل اصلی ابتلا به عفونت‌های تنفسی اکتسابی است که در هر سال منجر به ابتلای ۵۰۰ هزار نفر به ذات‌الریه، ۷ میلیون نفر به عفونت حاد گوش میانی و ۳ تا ۵ میلیون مرگ می‌شود (۱۰-۹).

در اواخر دهه‌ی ۱۹۸۰ سویه‌های S. pneumoniae مقاوم به پنی‌سیلین در سراسر جهان گسترش یافت. از نظر جغرافیایی میزان سویه‌های مقاوم به پنی‌سیلین بسیار متغیر و همواره در سال‌های اخیر رو به افزایش بوده است. جدایه‌های S. pneumoniae که حساسیت‌شان نسبت به پنی‌سیلین کاهش یافته است در مقابل سایر پنی‌سیلین‌ها و تمامی نسل‌های سفالوسپورین‌ها مانند سفوتاکسیم، سفورکسیم و سفتری‌آکسون نیز حساسیت‌شان کاهش می‌یابد. مقاومت به پنی‌سیلین در برخی از کشورهای اروپایی مانند اسپانیا، فرانسه و مجارستان به بیش از ۷۱ درصد می‌رسد. اما در کشورهای شمال اروپا مانند سوئد، فنلاند و هلند کمتر از ۵ درصد بوده است. همچنین میزان مقاومت به پنی‌سیلین در کشورهای واقع در قاره‌ی آمریکا مانند آرژانتین (۱۶/۱ درصد)، برزیل (۲)، شیلی (۱۶ درصد)، کلمبیا (۲۵ درصد)، مکزیک (۲۰ درصد) و اروگوئه (۲۱ درصد) به نسبت کمتر می‌باشد (۱۳-۱۱).

در آسیا میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی توسط Song و همکاران مورد بررسی قرار گرفت. این محققین مقاومت به پنی‌سیلین در کره (۵۴/۸ درصد)، چین (۲۳/۴ درصد)، تایلند (۲۶/۹ درصد)، تایوان (۳۸/۶ درصد)، هند (صفر درصد)، سریلانکا (۱۴/۳ درصد)، سنگاپور (۱۷/۱ درصد)، مالزی (۲۹/۵ درصد)، ویتنام (۷۱/۴ درصد)، فیلیپین (۰ درصد) و هنگ کنگ (۴۳/۲ درصد) را گزارش کردند (۱۴). در بررسی که مصطفوی‌زاده و همکاران در تهران بر روی ۸۹ سویه S. pneumoniae انجام دادند، ۳۰ درصد از سویه‌ها حساس به پنی‌سیلین بودند (۱۵). خوشدل و همکاران در شهرکرد میزان مقاومت به پنی‌سیلین در ۳۸ سویه‌ی جدا شده از ۲۲۴ کودک را ۲۸/۹ درصد گزارش کردند (۱۶). نتایج ما در این پژوهش نشان داد که میزان مقاومت به پنی‌سیلین بسیار زیاد و مشابه کشورهایی مانند ویتنام می‌باشد. مهم‌ترین عامل ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی مصرف زیاد آنتی بیوتیک‌ها می‌باشد. بیش از نیمی از بیماران بستری در بیمارستان‌ها

www.mui.ac.ir

آنتی‌بیوتیک‌ها را به عنوان درمان و یا پیش‌گیری دریافت می‌نمایند. عوامل زیادی مانند استفاده‌ی نادرست از آنتی‌بیوتیک‌ها، تجویز نادرست پزشکان، رژیم‌های درمانی تک دارویی، بیمارستان‌ها، پیشرفت‌های تجاری، به کار نبردن آزمون‌های تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی قبل از تجویز دارو، مصرف دارو در دوزهای پایین و در کوتاه مدت، موجب ایجاد مقاومت دارویی می‌گردد. بسیاری از بیماران اعتقاد دارند که داروهای جدید و گران بسیار کارآمدتر از داروهای قدیمی هستند. این دیدگاه غلط موجب مقاومت به هر دو گروه داروهای قدیمی و جدید می‌شود. گذشته از این فراموش کردن نوبت دارویی، قطع زود هنگام دارو و خود درمانی نیز از عوامل ایجاد مقاومت هستند (۴).

Zettler و همکاران در برزیل ۱۵۰ سویه S. pneumoniae را بررسی کردند. محققین یاد شده مقاومت به پنی‌سیلین را در ۲۲/۸ درصد از سویه‌ها گزارش نمودند. ژن pbp2 x در ۸۴ درصد، pbp2b در ۲۸ درصد و ژن pbp1a در ۴ درصد از سویه‌های نیمه حساس به پنی‌سیلین شناسایی گردید. در حالی که ژن‌های pbp2b و pbp2x در ۱۰۰ درصد و ژن pbp1a در ۹۰ درصد از سویه‌های مقاوم شناسایی گردید (۱۷).

Nagai و همکاران، از ۲۱۸ سویه جدا شده از کودکان در جنوب غربی ژاپن، ۲۹ (۹/۶ درصد) سویه‌ی مقاوم و ۸۱ (۳۷/۲ درصد) سویه‌ی نیمه حساس به پنی‌سیلین را شناسایی نمودند. همچنین در پژوهش یاد شده در تمامی سویه‌های نیمه حساس به پنی‌سیلین ژن bpb2x شناسایی شد (۷). Fukushima و همکاران با بررسی ۱۴۴ نمونه S. pneumoniae، ژن pbp1a را در ۴ سویه (۲/۷ درصد)، ژن pbp2x را در ۲ سویه (۱/۴ درصد) و ژن pbp2b را در ۳۰ سویه (۲۰/۸ درصد) شناسایی نمودند (۱۸).

نتایج ما در این پژوهش نشان داد که با وجود فراوانی بیشتر مقاومت نسبت به pbp1a (۲۰ درصد)، اما در کل به دلیل فراوانی اندک مقاومت، می‌توان نتیجه‌گیری نمود که ژن‌های pbps دلیل اصلی مقاومت به پنی‌سیلین در سویه‌های S. pneumoniae جدا شده از بخش مراقبت‌های ویژه محسوب نمی‌شوند. بنابراین به نظر می‌رسد که ضرورت ارزیابی سایر مکانیسم‌های مقاومت مانند جهش در آنزیم‌های هیستیدین پروتئین کیناز (CiaH)، گلیکوزیل ترانسفراز (CpoA) و تغییر در ایران murMN (۱۹) در پژوهش‌های بعدی وجود داشته باشد.

با وجود اهمیت زیاد عفونت‌های پنموکوکی، حمایت سرمایه‌گذاری برای پژوهش در این زمینه نامطلوب بوده است. نتیجه‌ی غم‌انگیز، غفلت و بی‌توجهی در این مورد نیز ظهور سریع مقاومت آنتی‌بیوتیکی در برابر آن بوده است. بدون تردید، شناسایی مکانیسم‌های مولکولی مقاومت دارویی، پایش سریع سویه‌های مقاوم به ویژه در افراد پرخطر و از طرفی تلاش در مورد ساخت واکسن کارامد می‌تواند مهم‌ترین راه‌کارهای ما برای پیش‌گیری و درمان عفونت‌های S. pneumoniae باشد.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که به دلیل میزان بالای مقاومت نسبت به پنی‌سیلین در بیماران مورد پژوهش ضرورت جایگزینی آن با آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند کلرآمفنیکل، آمیکاسین، استرپتومایسین و جنتامایسین وجود دارد.

www.mui.ac.ir

نتایج این پژوهش نشان داد که ژن‌های pbps دلیل اصلی مقاومت به پنی‌سیلین در سویه‌های S. pneumoniae جدا شده از بخش مراقبت‌های ویژه‌ی شهر سیراز محسوب نمی‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب سپاس خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم و شهرکرد به دلیل حمایت‌های مالی اجرایی اعلام می‌دارند.

References

1. van der Poll T, Opal SM. Pathogenesis, treatment, and prevention of pneumococcal pneumoniae. Lancet 2009; 374(9700): 1543-56.
2. Ghasemi A, Namaki S, Mirshafiey A. Streptococcus pneumoniae. Journal of Chinese Clinical Medicine 2012; 4: 1-8.
3. Gillespie SH, Balakrishnan I. Pathogenesis of pneumococcal infection. J Med Microbiol 2000; 49(12): 1057-67.
4. Deasy J. Antibiotic resistance: the ongoing challenge for effective drug therapy. JAAPA 2009; 22(3): 18-22.
5. Livermore DM. Bacterial resistance: origins, epidemiology, and impact. Clin Infect Dis 2003; 36(Suppl 1): S11-S23.
6. Ferroni A, Berche P. Alterations to penicillin-binding proteins 1A, 2B and 2X amongst penicillin-resistant clinical isolates of Streptococcus pneumoniae serotype 23F from the nasopharyngeal flora of children. J Med Microbiol 2001; 50(9): 828-32.
7. Nagai K, Shibasaki Y, Hasegawa K, Davies TA, Jacobs MR, Ubukata K, et al. Evaluation of PCR primers to screen for Streptococcus pneumoniae isolates and beta-lactam resistance, and to detect common macrolide resistance determinants. J Antimicrob Chemother 2001; 48(6): 915-8.
8. Koneman EW. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
9. Bocksteal K, Van Aerschot A. Antimicrobial resistance in bacteria. Cent Eur J Med 2009; 4(2): 141-55.
10. Lynch JP, III, Zhanel GG. Streptococcus pneumoniae: epidemiology and risk factors, evolution of antimicrobial resistance, and impact of vaccines. Curr Opin Pulm Med 2010; 16(3): 217-25.
11. Jenkins SG, Brown SD, Farrell DJ. Trends in antibacterial resistance among Streptococcus pneumoniae isolated in the USA: update from PROTEKT US Years 1-4. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2008; 7: 1.
12. Reinert RR, Reinert S, van der Linden M, Cil MY, Al-Lahham A, Appelbaum P. Antimicrobial susceptibility of Streptococcus pneumoniae in eight European countries from 2001 to 2003. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49(7): 2903-13.
13. Camargos P, Fischer GB, Mocelin H, Dias C, Ruvinsky R. Penicillin resistance and serotyping of Streptococcus pneumoniae in Latin America. Paediatr Respir Rev 2006; 7(3): 209-14.
14. Song JH, Chang HH, Suh JY, Ko KS, Jung SI, Oh WS, et al. Macrolide resistance and genotypic characterization of Streptococcus pneumoniae in Asian countries: a study of the Asian Network for Surveillance of Resistant Pathogens (ANSORP). J Antimicrob Chemother 2004; 53(3): 457-63.
15. Mostafavi zadeh K, Khorvash F, Abosaeedi H, Fasihi Dastjerdi M, Mobasheri zadeh S, Izadi M, et al. Determination of streptococcus pneumoniae resistant to penicillin and ceftriaxone by E-test method. Kowsar Med J 2008; 12(4): 325-30.
16. Khoushdel AAF, Imani R, Saedi E, Soleymani K, Hamedi M, Kasiri KA, et al. The prevalence of Streptoccus pneumoniae and its penicillin resistance pattern in children less than five years old from Shahrekord, Iran. Shahrekord Univ of Med Sci J 2009; 10(4): 89-95.
17. Zettler EW, Scheibe RM, Dias CA, Santafe P, Moreira JS, Santos DS, et al. Polymerase chain reaction used to detect Streptoccus pneumoniae resistance to penicillin. J Bras Pneumol 2004; 30(6): 521-7.
18. Fukushima KY, Yanagihara K, Hirakata Y, Sugahara K, Morinaga Y, Kohno S, et al. Rapid identification of penicillin and macrolide resistance genes and simultaneous quantification of Streptococcus pneumoniae in purulent sputum samples by use of a novel real-time multiplex PCR assay. J Clin Microbiol 2008; 46(7): 2384-8.
19. Morand B, Muhlemann K. Heteroresistance to penicillin in Streptococcus pneumoniae. Proc Natl Acad Sci U S A 2007; 104(35): 14098-103.

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 30, No 176, 2nd week, April 2012 Received: 26.6.2011 Accepted: 20.1.2012

The Role of pbp1a, pbp2b and pbp2x Genes in Penicillin Resistance in *Streptococcus pneumoniae* Strains Isolated from ICUs

Mohammad Kargar PhD[1], Maryam Baghernejad MSc[2], Sadegh Ghorbani Dalini MSc[3]

Abstract

Background: A major concern about *Streptococcus pneumonia*e (*S. pneumonia*e) is the emergence of resistance to antibiotics, especially to penicillin. The aim of this study was to assess the role of *PBPs* gene in penicillin resistance of *S. pneumonia*e strains isolated from two intensive care units (ICUs).

Methods: This cross-sectional study was carried out on 62 samples suspected to *S. pneumonia*e isolated from patients who were admitted to ICUs of Namazi and Shahid Faghihi Hospitals, Shiraz, Iran, in 2010-2011. At first suspected colonies were identified by phenotypic and chemical tests. Organisms were confirmed to be *S. pneumoniae* on the basis of the presence of *lytA* gene by polymerase chain reaction (PCR) method. Antibiotic resistance was evaluated according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Molecular analyses of penicillin resistance were carried out using specific primers for *pbp1a*, *pbp2b* and *pbp2x* genes.

Findings: Of total samples, 50 (80.64%) isolates were confirmed to be *S. pneumonia*e by PCR assay. Of these isolates, 20 (40%), 10 (20%), and 20 (40%) strains were sensitive, moderately sensitive, and resistant to penicillin, respectively. Out of resistant and moderately sensitive strains, 6 (20%) and 1 (3.33%) strains harbored *pbp1a* and *pbp2x* genes, respectively. However, *pbp2b* was not identified in any samples.

Conclusion: Monitoring other kinds of resistance mechanisms is recommended due to the low frequency of *pbps* genes.

Keywords: *Streptococcus pneumonia*e, Penicillin resistance, Penicilline-binding proteins

[1] Associate Professor, Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran
[2] Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran
[3] Department of Microbiology, Young Researchers' Club, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran
Corresponding Author: Mohammad Kargar PhD, Email: mkargar@jia.ac.ir