**مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز**
**دوره ۳۰ شماره ۳ پاییز ۱۳۸۷ صفحات ۶۶- ۶۱**

# بررسی الگوی مقاومت دارویی، تولید بتالاکتاماز و پروفایل پلاسمیدی در ایزوله‌های نایسریاگونوره جدا شده از بیماران دچار اورتریت و سرویسیت درشهر کرمان

**دکتر محمدرضا شکیبایی**: دانشیار میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، نویسنده رابط:
**E-mail:** mr_shakibaei@kmu.ac.ir
**عبدالله اردبیلی**: دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
**دکتر شهناز عالی**: استاد زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
**دکتر علی اصغرکتابچی**: دانشیار ارولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
**دکتر ناصرشهابی نژاد**: متخصص بیماریهای عفونی بیمارستان فاطمه زهرا کرمان

**دریافت: ۸۶/۲/۲، پذیرش: ۸۷/۳/۲۹**

## چکیده

**زمینه و اهداف:** در سالهای اخیر شیوع عفونت های ناشی از باکتری نایسریا گونوره (گنوکوک) در کشورهای مختلف جهان، بخصوص جهان سوم افزایش قابل ملاحظه‌ای داشته است. اغلب سویه های جدا شده از بیماران، مقاومت متعددی را نسبت به آنتی بیوتیکهای مؤثر بر روی این باکتری نشان می دهند . یکی از مهمترین آنها، ظهور سویه‌های مولد آنزیم بتالاکتاماز است که ژن آن بر روی پلاسمیدهای با وزن ملکولی بالا قرار دارد.اطلاعات اندکی در مورد میزان مقاومت دارویی و الگوی پلاسمید در سویه های نایسر یا گونوره در ایران وجود دارد.

**روش بررسی:** در این تحقیق از ۲۰۵ بیمار با علائم اورتریت و سرویست چرکی مراجعه کننده به چهار مرکز درمانی اورولوژی، زنان و عفونی در سطح شهر کرمان از آبان ماه ۱۳۸۴ تا خرداد ماه ۱۳۸۵ که مورد بررسی قرار گرفتند، تعداد ۳۷ مورد مثبت باکتری گنوکوک جدا شد. برای شناسایی ایزوله ها، نمونه های چرکی جدا شده از بیماران ابتدا رنگ‌آمیزی گرم شدند و باکتریها در محیط اختصاصی تایرمارتین تغییریافته (MTM) حاوی VCNT و ۲٪ هموگلوبین و آگار شکلاتی کشت داده شدند. سپس تستهای تشخیصی اکسیداز، کاتالاز و تخمیر قندها برای هر ایزوله بطور جداگانه انجام شد. حساسیت دارویی ایزوله ها توسط تست های انتشار دیسک در آگار و متد MIC مشخص شد و تولید بتالاکتماز و وجود پلاسمید در میان ایزوله‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته ها:** ۸۳٪ از ایزوله‌های گنوکوک به پنی سیلین و ۷۲/۹٪ به تتراسیکلین مقاوم بودند [ MIC $\geq$ ۲ µg/ml ] ، این در حالی بود که ۷۸٪ ایزوله ها به سیپروفلوکساسین، ۶۷/۵٪ به سفتریاکسون و ۶۲٪ به سفتازیدیم حساس بودند[ MIC ۰/۰۵ µg/ml ] ($P \leq$ ۰/۰۵).

**نتیجه گیری:** ۵۴٪ از ایزوله‌هایی که مقاوم به پنی سیلین بودند تولید آنزیم بتالاکتاماز می‌کردند. مطالعه الگوی پلاسمیدی ایزوله‌ها در آگارز ژل سه نوع پلاسمید با وزن ملکولی بالا را نشان داد. در حالیکه اغلب سویه ها فاقد هر نوع پلاسمیدی بودند.

**کلید واژه ها:** نایسر یا گونوره، مقاومت دارویی، بتالاکتاماز، پلاسمید

## مقدمه

نایسریاگونوره (گنوکوک) یک کوکسی گرم منفی غیر متحرک که اغلب بصورت دیپلوکوک‌های لوبیایی شکل داخل سلولی دیده می شود. این باکتری علت بیماری سوزاک (گونوره) است که از طریق تماس جنسی از شخصی به شخص دیگر منتقل می شود.

در حقیقت باکتری نایسریا گونوره دومین ارگانیزم بعد از کلامیدیا تراکوماتیس است که ایجاد عفونت‌های تناسلی ادراری و عفونت های سیستمیک می‌کند (۳-۱). این باکتری علت اصلی

بیماریهای تناسلی مانند اورتریت چرکی و سرویسیت در افرادی که از لحاظ جنسی فعال هستند، می‌باشد.

همچنین این باکتری می‌تواند عفونتهای خطرناکتری دیگر مانند سالپنژیت، التهاب لگن و مننژیت را بوجود آورد (۴-۳). درصد قابل ملاحظه‌ای از عفونت‌های گنوکوک بدون علائم بالینی (asymptotic) بوده و اغلب تشخیص داده نمی‌شوند. در نتیجه دراز مدت نظیر دردهای مزمن شکمی، حاملگیها خارج از رحم و عقیمی اثرات جبران ناپذیری در فرد بوجود می‌آید (۲). عفونت های خفیف و مزمن در افرادی که درمان نمی شوند سبب تسهیل انتشار این باکتری به شرکای جنسی می‌گردد.

ظهور بیماری ایدز در جوامع بشری و مطالعات مربوط به انتقال آن، باعث افزایش دانش ما در رابطه با نایسریا گونوره شده است. چون باکتری نایسریا گونوره بعنوان co-factor برای انتقال و کسب ویروس HIV در هر دو مطالعات اپیدمولوژیک و انتشار تناسلی مورد توجه قرار گرفته است (۴). در ده سال اخیر سویه‌های نایسریاگونوره مقاومت بالایی را نسبت به آنتی‌بیوتیکهای مختلفی که در درمان روتین سوزاک استفاده می‌شوند، بوجود آورده است (۶،۵). از زمانی که پنی‌سیلین کشف شد و در درمان بیماری سوزاک مورد استفاده قرار گرفت، سویه‌های نایسریا گونوره به تدریج به آن مقاوم شدند و امروزه اکثر سویه‌های گونوره با تولید آنزیم پنی‌سیلیناز (بتالاکتاماز) [PPNG] به پنی‌سیلین مقاوم شده و این مقاومت از سال ۱۹۷۶ با روند صعودی مواجه است (۶-۵).

همچنین سویه‌های مقاوم نایسریا گونوره به تتراسیکلین و اسپکتینومایسین نیز در حال افزایش بوده و در اکثر مناطق جغرافیایی جهان دیده می‌شوند (۷). سویه‌های مقاوم گنوکوک اغلب از مناطق شمال آفریقا، جنوب وجنوب شرقی آسیا و اروپای شرقی گزارش شده اند (۹-۸).

ژنهای مسئول مقاومت دارویی اغلب بر روی پلاسمیدهای کانژگاتیو، ترانسپوزون ها و اینتگرون ها وجود داشته و براحتی به سویه‌های حساس منتقل می‌شوند (۱۰). در نتیجه مطالعه بر روی میزان مقاومت دارویی و وجود پلاسمید در این میکروب از اهمیت زیاد درمانی برخوردار است.

در ایران اطلاعات اندکی در مورد نایسریاگونوره وجود دارد و هیچگونه اطلاعاتی در مورد الگوی مقاومت دارویی، تولید بتالاکتاماز و وجود پلاسمید در دسترس نیست (۱۲-۱۱). هدف از انجام این مطالعه، بررسی الگوی مقاومت دارویی، شناسایی آنزیم بتالاکتاماز و پلاسمید در میان ایزوله‌های این باکتری است.

## مواد و روش‌ها

از آبان ماه ۱۳۸۳ تا خرداد ماه ۱۳۸۵ جمعاً ۲۰۵ بیمار با علائم و نشانه‌های اورتریت و سروسیت چرکی مراجعه کننده به چهار کلینیک تخصصی در سطح شهر کرمان مورد مطالعه قرار گرفتند. همه بیماران (۱۶۹ زن و ۳۶ مرد) که دارای علائم بالینی بالا بودند برای وجود نایسریاگونوره بررسی شدند. نمونه‌ها در زنان با سواب استریل توسط پزشک زنان از آندوسرویکس بیماران برداشته شده و ابتدا به محیط انتقالی AMIS (شرکت Hi-Media) منتقل و سپس به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده پزشکی کرمان برای تشخیص و مطالعات بعدی انتقال یافتند.

نمونه‌برداری از بیماران مرد دچار اورتریت در آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی مستقیماً انجام گردید. رنگ آمیزی گرم از تمام نمونه ها انجام و سپس نمونه ها در محیط‌های کشت اختصاصی و غیراختصاصی کشت داده شدند.

نمونه‌های ایزوله شده در محیط های کشت آگار شکلاتی و تایرمارتین تغییر یافته (MTM) (شرکت Hi-Media) حاوی VCNT (وانکومایسین، کلیسیتین، نیستاتین و تری‌متوپریم) و ۲٪ هموگلوبین کشت داده شده و سپس پلیت‌ها در جار شمعی ($co_2$ ۰/۵ )در دمای ۳۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در انکوباتور نگهداری گردیدند. شناسایی ایزوله ها، توسط خصوصیات مرفولوژی کلنی‌ها، رنگ آمیزی گرم – تست های اکسیداز و کاتالاز و تخمیر قندها همچنین عدم رشد در محیط آگار نوترنیت انجام شد. سپس تمام ایزوله ها در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد در محیط کشت عصاره مغزی – قلبی حاوی ۲۰٪ گلیسرول برای مطالعات بعدی ذخیره شدند.

حساسیت دارویی ایزوله های نایسریاگونوره به آنتی‌بیوتیکهای مختلف بوسیله متد انتشار دیسک در آگار (۱۳) با استفاده از دیسک‌های آنتی بیوتیک‌های زیر penicillin G (PG) [۱۰u/disk]، تتراسیکلین (Te) [۳۰µg/disk]، داکسی سیکلین(Doxy) [۳۰µg/disk]، جنتامیسین (Gm) [۱۰µg/disk]، سیپروفلوکساسین (CIP) [۳۰µg/disk]، سفالکسین(Cf) [۳۰µg/disk]، سفازولین (CZ) [۳۰ µg/disk]، اریترومایسین (E) [۳۰µg/disk]، سولفامتاکسازول [µg/disk ۲۰۰(SXT)]، بر اساس روش NCCLS (۳) در محیط کشت مولرهینتون آگار (MHA) انجام شد. تمام دیسکها از شرکت پادتن طب خریداری شدند. تست MIC (کمترین غلظت بازدارنده از رشد) به کمک متد رقت‌سازی در آگار (Agar dilution) انجام شد. ۱۹/۹ میلی لیتر محیط کشت MHA تهیه گردید و۰/۱ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری در غلظت $10^{5}$-$10^{4}$ CFU/ml به آن اضافه شد. رقت‌سازی از غلظت، کمتر یا مساوی ۰/۰۰۲ µg/ml تا ۲۵۶ µg/ml انجام شد. پلیت‌های حاوی رقت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک در دمای ۳۶ درجه سانتی‌گراد در جار شمعی آنکوبه گردیدند و پس از ۲۴ ساعت، رشد باکتری‌ها (تشکیل کلنی) مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفت. نتایج با سویه حساس و استاندارد *N.gonorrhoea* ATCC49226 که از شرکت Mast انگلیس خریداری شده بود، مقایسه گردید. وجود آنزیم بتالاکتاماز در ایزوله‌های نایسریاگونوره بوسیله متد یدومتری (۱۴) پس از پاره کردن باکتری مورد بررسی قرار گرفت. بطور خلاصه برای جداسازی آنزیم از فضای پری‌پلاسم سلول باکتری، هر دو متد Freeze- thawing و سونیکاسیون با هم انجام شد. یک لوپ از ایزوله‌های مختلف باکتری در داخل ml ۳ محیط BHI استریل حل

شد و در دمای ۳۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در جار شمعی آنکوبه شد. سپس سوسپانسیون باکتری (هر ایزوله بصورت جداگانه) در دورrpm ۱۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید و رسوب سلولی در ۲ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار استریل با ۶- pH حل شد. مخلوط حل شده در فریزر با درجه حرارت ۷۰- درجه سانتی‌گراد به مدت ده دقیقه نگهداری شد و فوراً لوله‌ها در پودر یخ قرار گرفتند. سونیکاسیون سلولها به مدت ۶۰ ثانیه در ۵ سیکل متناوب با استفاده از دامنه ۸۰٪ (dr. hielseher- up 200H) انجام شد. پاره شدن سلولها توسط متد رنگ‌آمیزی گرم تایید گردید. سوسپانسیون پاره شده باکتری به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. محلول رویی به لوله جداگانه‌ای منقل گردید و وجود آنزیم بتالاکتاماز مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی الگوی پلاسمیدی در سویه‌های ایزوله شده نایسریاگونوره، تمام ایزوله‌ها در معرض جداسازی پلاسمید توسط روش لیز قلیایی (۱۵) قرار گرفتند. آگارز ۰/۷٪ (Wt/Vol) تهیه گردید و۲۰ میکرولیتر از DNA های بدست آمده با رنگ بروموفنل آبی و ۳۰٪ گلیسرول مخلوط و در داخل چاهکهای ژل ریخته شد. الکتروفورز به صورت افقی با استفاده از بافر تریس EDTA بورات (TEB) (pH=۸) یک میلی‌مولار به مدت ۴ ساعت در ۶۰ ولت انجام شد. سپس ژل آگارز با ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر اتیدیوم بromید (سیگما) رنگ‌آمیزی شد و در دستگاه U.V.gel document مورد مشاهده و ارزیابی قرار گرفت. همزمان قطعات DNA با وزن مولکولی مشخص به عنوان مارکر برای تعیین وزن مولکولی پلاسمیدها مورد استفاده قرار گرفت. برای مقایسه و درصدگیری از روشهای مجذور کای و Two fold fisher استفاده شد($P \leq ۰/۰۵$). به عنوان مقدار P درنظر گرفته شد.

## یافته ها

از تعداد ۲۰۵ بیمار مبتلا به اورتریت و سرویسیت (۳۶ مرد و ۱۶۹ زن) در طول آبان ماه ۱۳۸۴ تا خرداد ماه ۱۳۸۵ که به چهار کلینیک تخصصی در سطح شهر کرمان مراجعه نموده بودند، ۳۷ نفر مبتلا به گونوره بودند. جدول -۱ نشان‌دهندهٔ تعداد و درصد انتشار نایسریا گونوره در میان بیماران زن و مرد با مشخصات سنی متفاوت می‌باشد. در مردان، بیشتر موارد مثبت در دامنه سنی ۲۵-۱۸ سال قرار داشتند، در حالی که در زنان بیشتر موارد مثبت در جمعیت سنی ۳۵-۲۶ سال بود ($P < ۰/۰۵$). در شکل -۱ لام مستقیم ایزوله شماره -۱ و خصوصیات کلنی آن در محیط کشت MTM نشان داده شده است. بر اساس روش NCCLS، حساسیت دارویی ایزوله‌ها در جدول -۲ نشان داده شده است. همانطور که جدول ۲ نشان می‌دهد، ۸۳٪ از ایزوله‌ها به پنی سیلین [ ۲۵ µg/ml- ۲ MIC ]، ۷۲/۹٪ به تتراسیکلین [ ۶۴-۴ µg/ml MIC ] و ۴۳/۲٪ به داکسی سیلین [ ۱۶-۴ µg/ml MIC ] مقاوم بودند. این در حالی بود که ۷۸٪ از ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین، ۶۷/۵٪ به سفتریاکسون و ۶۲٪ به سفتازیدیم با [ ۰/۵-۰/۰۰۲ µg/ml MIC ] حساس بودند. چهار ایزوله گنوکوک به سیپروفلوکساسین مقاوم با$\mu g/ml$ ۸ $\leq$ MIC و ۶ ایزوله MIC بالایی ۴$\mu g/ml$ به سفتریاکسون از خود نشان دادند (جدول -۲). ارتباط معنی‌داری بین اندازه هاله عدم رشد توسط متد انتشار دیسک در آگار و MIC وجود داشت. نتایج مطالعه وجود بتالاکتاماز در ۳۷ ایزوله نایسریاگونوره نشان داد که تنها ۲۰ (۵۴٪) از سویه ها گنوکوک قادر به تولید آنزیم بتالاکتاماز پس از پاره شدن سلول هستند و اغلب ایزوله‌های PPNG تولید بتالاکتاماز پری‌پلاسمیک می‌کردند درحالیکه ۱۷ (۴۶٪) از نمونه ها فاقد این آنزیم بودند ($P < ۰/۰۵$). بررسی وجود پلاسمید و آگارز ژل الکتروفورز سه نوع الگوی پلاسمیدی را در سویه‌های ایزوله شده گنوکوک نشان داد (شکل ۱). ایزوله شماره ۱ و ۲۰ و ۲۲ هر یک دارای یک پلاسمید و ایزوله شماره ۱۹ دارای دو پلاسمید با وزن مولکولی بالا در درون خود بودند. این در حالی بود که اغلب ایزوله‌های گنوکوک باند پلاسمیدی در آگارز ژل نداشتند، گرچه مقاوم به پنی‌سیلین و تتراسیکلین بودند. به نظر می‌رسد که مقاومت در این ایزوله‌ها از نوع کروموزومی می‌باشد.

**جدول ۱:** توزیع فراوانی نایسریاگونوره در بین جمعیت سنی مختلف افراد مبتلا به اورتریت و سرویسیت چرکی در شهر کرمان در سال ۱۳۸۵

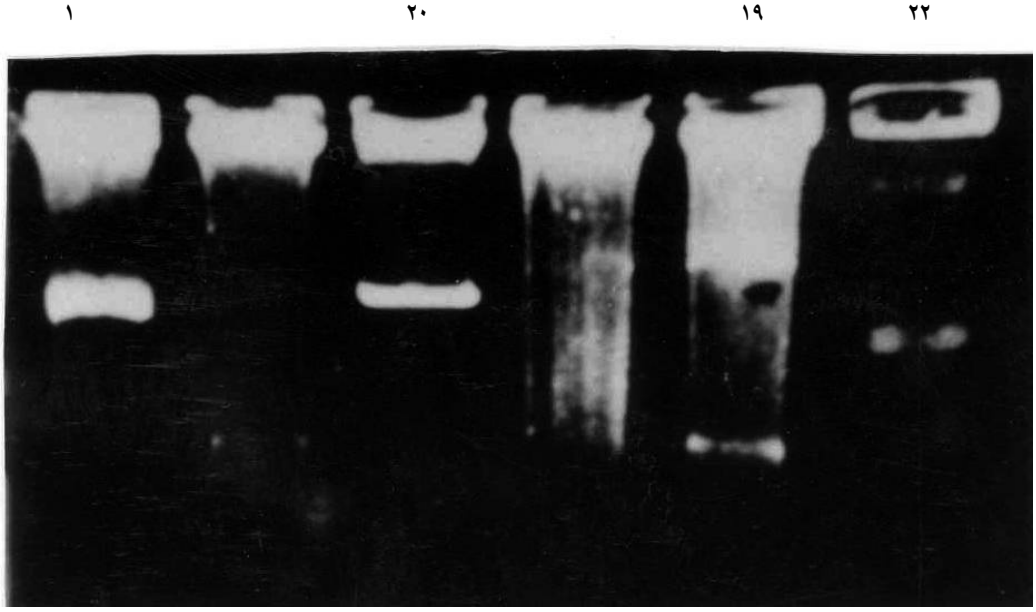
| جنس | | گروه سنی بر اساس سال و درصد | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ۱۸-۲۵ | ۲۶-۳۵ | ۳۶-۴۵ | ۴۵ < | جمع |
| مردان | مثبت | ۱۰ (۱۵/۱۵) | ۲ (۲) | ۲ (۷/۴) | ۰ | ۱۴ (۶/۸) |
| | منفی | ۱۰ (۱۵/۱۵) | ۸ (۷/۹) | ۲ (۷/۴) | ۲ (۱۸/۲) | ۲۲ (۱۰/۷) |
| | جمع | ۲۰ (۳۰/۳) | ۱۰ (۹/۹) | ۴ (۱۴/۸) | ۲ (۱۸/۲) | ۳۶ (۱۷/۵) |
| زنان | مثبت | ۵ (۷/۵) | ۱۶ (۱۵/۸) | ۲(۷/۴) | ۰ | ۲۳ (۱۱/۲) |
| | منفی | ۴۱ (۶۲/۱) | ۷۵ (۷۴) | ۲۱ (۷۷/۷) | ۹ (۸۱/۸) | ۱۴۶ (۷۱/۲) |
| | جمع | ۴۶ (۶۹/۷) | ۹۱ (۹۰/۱) | ۲۳ (۸۵/۲) | ۹ (۸۱/۸) | ۱۶۹ (۸۲/۴) |
| جمع کل | ۲۰۵ | ۶۶ (۱۰۰) | ۱۰۱ (۱۰۰) | ۲۷ (۱۰۰) | ۱۱ (۱۰۰) | ۲۰۵ (۱۰۰) |

Mean±SD = ۲۱ ± ۱۴/۳

**جدول ۲:** بررسی حساسیت دارویی ۳۷ ایزوله نایسریاگونوره به ۶ آنتی‌بیوتیک با روش MIC

| آنتی بیوتیکها | تعداد ایزوله‌ها (درصد) با MIC مربوط به هر دارو (µg/ml) | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | >۰/۰۰۲ | ۰/۰۰۲ | ۰/۰۰۴ | ۰/۰۰۸ | ۰/۰۱۵ | ۰/۰۳ | ۰/۰۶ | ۰/۱۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۵ | ۱ | ۲ | ۴ | ۸ | ۱۶ | ۳۲ | ۶۴ | ۱۲۸ | ۲۵۶ |
| پنی‌سیلین | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۱(۲/۷) | ۱(۲/۷) | ۲(۵/۴) | ۰ | ۲(۵/۴) | ۳(۸/۱) | ۱(۲/۷) | ۲(۵/۴) | ۳(۸/۱) | ۶(۱۶/۲)۸(۲۱/۶)۵(۱۳/۵) | | | |
| تتراسیکلین | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۲(۵/۴) ۶(۱۶/۲) | ۰ | ۲(۵/۴) | ۰ | ۵(۱۳/۵)۹(۲۴/۳)۸(۲۱/۶)۴(۱۰/۸) ۱(۲/۷) | | | | | | ۰ | |
| داکسی‌سیکلین | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۱(۲/۷) | ۱(۲/۷) ۵(۱۳/۵)۵(۱۳/۵)۴(۱۰/۸)۲(۵/۴)۴(۱۰/۸)۱۰(۲۷) ۲(۵/۴) ۴(۱۰/۸) | | | | | | | | | | | | | |
| سفتریاکسون | ۰ | ۰ | ۳(۸/۱) | ۲(۵/۴) ۶(۱۶/۲)۶(۱۶/۲)۶(۱۶/۲) ۱(۲/۷) | | | | | ۰ | ۳(۸/۱) ۲(۵/۴) ۶(۱۶/۲) | | | | | | | | | |
| سفتازیدیم | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۳(۸/۱) | ۳(۸/۱) ۵(۱۳/۵) | | ۸(۲۱/۶)۲(۵/۴) | ۶(۵/۴)۲(۱۶/۲)۸(۲۱/۶) | | | | | | | | | | |
| سیپروفلوکساسین ۴(۱۰/۸) | ۰ | ۰ | ۴(۱۰/۸)۶(۱۶/۲)۶(۱۶/۲)۵(۱۳/۵) | | | | ۰ | ۳(۸/۱) | ۱(۲/۷) ۳(۸/۱) | | ۱(۲/۷) | | | | | | | | |

MIC: کمترین غلظت بازدارنده از رشد




**شکل ۱:** آگارز ژل الکتروفورز و الگوی پلاسمیدی در میان ۳۷ ایزوله نایسریاگونوره در میان سویه های ایزوله شده ، سویه ۱ و۲۰ دارای پلاسمید با وزن ملکولی ۳۲ Kb، سویه ۱۹ حاوی پلاسمید با وزن ملکولی Kb۲۶ ، و سویه ۲۲ حاوی پلاسمید با وزن ملکولی Kb۲۸.

## بحث

شیوع مقاومت دارویی در میان سویه‌های نایسریا گونوره یکی از معضلات بهداشتی کشورها می‌باشد. در آغاز گنوکوک‌ها بطور یکنواختی به داروهای پنی سلین، تتراسیکلین، کوتری موکسازول، ماکرولوئیدها و فلوروکوینولون‌ها حساس بودند، اما هیچکدام از این داروها امروزه برای درمان روتین گونوره در بیماران بدون علائم مناسب نیستند (۱۷و۱۶). اولین بار سویه‌های مولد بتالاکتاماز در دهه ۱۹۷۰ در آسیا و آفریقا ظاهر شدند که حامل پلاسمیدهای مقاوم به پنی سیلین با وزن مولکولی ۴/۴MD و ۳/۲MD بودند (۷). همچنین سویه‌های مقاوم به Te برای اولین بار در آمریکا گزارش شد (۱۰). جایگاه ژن TetM بر روی پلاسمید کانژوگاتیو احتمالاً نقش بسیار مهمی در انتشار این سویه‌ها در میان جمعیت بیماران داشته و ۷–۵٪ عفونت‌ها در آمریکا در بین سالهای ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۱ مربوط به این سویه‌ها بود. Knapp و همکاران(۱۸) ایزوله‌هایی از گنوکوک را در کینگستون جامائیکا پیدا کردند که مقاومت بالایی را به پنی سلین و تتراسیکلین از خود نشان می‌دادند.Greco و همکاران (۱۹) نشان دادند که ۹۴٪از ایزوله‌های PPNG و TRNG حامل پلاسمید ۳/۲MD نوع آفریقا بودند که توانایی تولید بتالاکتاماز را داشتند. مقاومت به سیپروفلوکساسین در

میان سویه‌های گنوکوک در آمریکا بین ۱/۵-۱/۳ درصد است (۲۰و۲۱). این میزان در هنگ‌کنگ و فیلیپین ۱۰٪ گزارش شده است (۲۱).

مقاومت به سیپروفلوکساسین اغلب به صورت کروموزومی بوده و همه انواع فلوروکینولون‌ها را شامل می‌شود.Djujakusumehe و همکاران (۲۲) با مطالعه الگوی پلاسمیدی و مقاومت دارویی سویه‌های نایسریاگونوره در اندونزی نشان دادند که آنتی‌بیوتیک‌های اوفلوکساسین و اسپکتینومایسین داروهای مؤثری برای درمان گونوره در این ناحیه هستند.MIC آنتی‌بیوتیک‌های گروه سفالوسپورین در دامنه‌ای قرار دارد که درمان مورد تأثیر قرار نمی‌دهد. برای مثال MIC سفتریاکسون برای سویه‌های با مقاومت کروموزومی خیلی بیشتر از سویه‌هایی است که به این دارو حساس می‌باشند. در سویه‌های مقاوم (۰/۰۱۵-۰/۱۲۵μg/ml) MIC و در سویه‌های حساس (۰/۰۰۱-۰/۰۰۸μg/ml) MIC است. با این وجود غلظت دارو در خون بالاتر از مقدار MIC بوده و در نتیجه درمان تأثیری نمی‌پذیرد.

در این مطالعه ما متوجه شدیم که نایسریاگونوره شیوع کمتری نسبت به مناطق گزارش شده دیگر دارد (۱۱ و ۱۲) و اغلب ایزوله‌ها به نسل سوم سفالوسپورین‌ها و سیپروفلوکساسین حساس هستند. این حساسیت دارویی در مردان و زنان مبتلا از یک الگو پیروی می‌کند. در ایزوله‌های گنوکوک سه نوع پلاسمید مشاهده شد (شکل ۲-) که وزن مولکولی بالایی داشتند و در هر دو PPNG و TRNG دیده شدند.

طبسی و همکاران (۱۲) با مطالعه شیوع نایسریاگونوره در میان زنان دچار سرویسیت در کاشان، دو ایزوله پیدا نمود که به هر دو داروی وانکومایسین و سفتریاکسون مقاوم بودند.

خوددرمانی در میان بیماران مبتلا به گونوره در فیلیپین باعث به وجود آمدن و انتشار سویه‌های مقاوم دارویی بوده است. این نظریه در مورد نمونه‌های مورد مطالعه ما نیز صحیح است.

زرگوشی (۱۱) با مطالعه یازده مورد گنوکوک در کرمانشاه نشان داد که خود درمانی یکی از دلایل به وجودآمدن سویه‌های مقاوم در میان این باکتری محسوب می‌شود. در مطالعهٔ ما ارتباط تنگاتنگی بین نتایج آنتی‌بیوگرام و MIC وجود دارد و بیش از نیمی از سویه‌های مقاوم به PG تولید بتالاکتاماز نوع پری‌پلاسمیک می‌کردند که حداقل در یک سویه (سویه شماره ۱-) ژن آن روی پلاسمید با وزن مولکولی بالا قرار داشت.

## نتیجه گیری

از نتایج بالا چنین استنباط می‌شود که هر دو ایزوله‌های PPNG و TRNG به شدت در میان بیماران مبتلا به اورتریت و سرویسیت چرکی گنوکوکی در شهر کرمان منتشر شده‌اند. نکته قابل توجه اینکه اغلب سویه‌ها نسبت به کینولون‌ها و سفتریاکسون حساس بودند. اکثر ایزوله‌های مقاوم به پنی‌سیلین و تتراسیکلین فاقد پلاسمید بودند. احتمالاً ژن کد کننده مقاومت بر روی کروموزوم باکتری قرار گرفته است. مطالعات بعدی در مورد خصوصیات پلاسمیدها و مکانیزم مقاوم دارویی انجام خواهد گرفت.

## تقدیر و تشکر

این مطالعه به صورت طرح تحقیقاتی به شماره ۸۳/۱۳ دانشگاه علوم پزشکی کرمان انجام شده است. ضمن تشکر از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان، از بخش میکروب‌شناسی نیز جهت انجام آزمایشات مربوطه تشکر و قدردانی می‌شود.

## References

1. Handsfield H, Spaling P. *Neisseria gonorrhoeae* In: Mandell LG, Benneth EJ, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases.. 6th ed. Elsevier Inc. Philadelphia, USA 2005; 2514-2526.
2. Diemert JD, Libman DM, Lebel P. Confirmation by 16S rRNA PCR of the COBAS Amplicor CT/NG test for diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae* infection in low prevalent population. *J Clin Microbiol* 2002; **40**(11): 4056-4059.
3. Center For Diseases control and Preventation, Traking the hidden epidemics. Trends in STD in United States 2000.CDC, Atlanta, Gorgia.
4. Mukenge-Tshibaka L, Alary M, Beriner F, Vandyck E, Lowndes CM, Anagonou S, *et al*. Diagnostic performance of the Roche amplicor PCR in detecting *Neisseria gonorrhoeae* in genitourinary specimens from female sex workers in cotonou, Benin. *Clin Microbiol* 2000; **38**(11): 4076-4079.
5. Ye S, Su X, Wang Q, Yin Y, Dai X, Sun H. Surveillance of antibiotic resistance of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in China. *Sex Transm Dis* 2002; **29**: 242-245.
6. Cohen MS, Canon JG. Human experimentation with *Neisseria gonohrroeae*: progress and goals. *J Infect Dis*1999; **179**: 375-379.
7. Handsfield HH, Rice RJ, Robert MC. Localized out break of penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae;* paradigm for introduction and spread of gonorrhea in a community. *JAMA* 1989; **261**: 2357-2360.
8. Bogears J, Vandyck E, Mukantabana B, Munjabikali J, Tell WM. Auxotypes, Serovars and trends of antimicrobial resistance of *Neisseria*

*gonorrhoeae* in Kigali, Rwanda. *Sex Transm Infect* 1998; **74**: 205-209.

9. Bhujan B, Rahman M, Miah R, Islam N, Ahmed M, Rahman KM, *et al*. JM. Antimicrobial susceptibilities and plasmid contents of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from commercial sex workers in Dhaka, Bangladesh. *Clin Microbiol* 1999; **37**(4): 1130-1136.
10. Morse SA, Johnson MR, Biddle JW. High level tetracycline resistance in *Neisseria gonorrhoeae* is result of acquisition of streptococcal tetM determinant . *Antimicrob Agents Chemother* 1986; **30**: 664-670.
11. Zarggoshi J. Characteristics of gonorrhea in Kermanshah, Iran. *Sex Transm Infect* 2002; **78**(6): 460-1.

۱۲. ۱۲- طبسی علی، خورشیدی منوچهر، اکبری حمید. درصد شیوع سوزاک در بیماران سرویسیت مقاوم به آنتی بیوتیک در کاشان. مجله علوم پزشکی کاشان **۲۲** :۷۰-۷۴. اردیبهشت ۱۳۸۰.

13. Shakibaie MR, Mansouri S, Hakak S. Plasmid pattern of antibiotic resistance in B-lactamase producing Staphylococcus aureus strains isolated from hospitals in kerman, Iran. *Arch Irn Med* 1999; **2**(2): 93-97.
14. Catlin BW. Iodometric detection of *Hemophilus influenzea* B-lactamase. Rapid presumptive test for ampicillin and cephalosporin resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1975; **7**: 265-270.
15. 15 Birnboim HC, and Doly J. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic acids Res* 1979; **7**: 1513-1523.
16. Center for Disease control and preventation. Sexually transmitted disease surveillance 2001, (Supple): Gonococcal isolate surveillance project (GISP). Annual reports, 2001. Atlanta Ga: USA. Department of health and human service 2002.
17. Sultan Z., Nahar S., Wretlind B., Lindhaek E., Rhaman M. Comparison of mismatch amplification mutation assay with DNA sequencing for characterization of fluoroqinolones resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *J Clin Microbiol* 2004; **47** (2): 591-594.
18. Knapp JS, Brathwaite AR, Hinds A, Duncan W, Rice RJ. Plasmid mediated antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in Kingston, Jamaica. Sex Transm Infect 1995; **22**(3): 155-9.
19. Greco V, Lai-king NG, Catana R, Li HU, and Dillon R. Moleular epidemiology of *Neisseria gonorrhoeae* isolates with plasmid mediated tetracycline resistance in Canada. *Micro Drug Resist* 2003; **9**(4): 353-360.
20. Thomas JC, Schoenbach VJ, Weiner DH. Rural gonorrhea in the south eastern united states; A neglected epidemic. *AM J Epidemiol* 1996; **143**: 269-277.
21. Fox KK, Knapp JS, Holmes KK, Hook EW, Judson FN, Thomps SE, *et al*. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the united states. The emergence of decreased susceptibility to fluoroquinolones. *J Infect Dis* 1997; **175**: 1396-403.
22. Djajakusumahe T, Sudigdoadi S, Meheus A, and Vandyck E. Plasmid pattern and antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* in Bundung, Indonesia. *Transactions Of the Royal Society Of Tropical Medicine and Hygiene* 1998; **92**: 105-107.