Archive of SID

Original Article

بررسی اپیدمیولوژیک ژن‌های مقاومت به ونکومایسین در انتروکوک های جدا شده از نمونه‌های بالینی

امید تیمورنژاد [۱]، اشرف محبتی مبارز [۲*]، رضا حسینی دوست [۳]

۱ ـ دانشجوی دکتری تخصصی باکتری شناسی پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۲ ـ دانشیار گروه باکتری شناسی پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۳ ـ استاد گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

چکیده

زمینه: جداسازی انتروکوک‌های مقاوم به ونکومایسین از نمونه‌های بالینی بسیار با اهمیت است. ما در این مطالعه به بررسی اپیدمیولوژی این مقاومت در سطح فنوتیپی و ژنوتیپی پرداخته‌ایم.

مواد و روش‌ها: این مطالعه بر روی ۴۱۱ انتروکوک جمع آوری شده از مهر ماه ۱۳۸۳ لغایت مهرماه ۱۳۸۷ از شش بیمارستان منتخب تهران انجام گرفته است. پس از جدا سازی و انجام تست‌های تأییدی، انتروکوک‌ها از نظر مقاومت به ونکومایسین با روش انتشار دیسک و رقت سازی در آگار مورد بررسی قرار گرفتند و سویه‌های مقاوم پس از استخراج DNA با انجام PCR از نظر حضور ژن‌های vanA,B,C,D and E بررسی شدند.

نتایج: ۱۸۵(۴۵٪) و ۲۳(۵/۶٪) انتروکوک با روش انتشار دیسک و رقت سازی در آگار به ونکومایسین مقاوم بودند و هر ۲۳ انتروکوک با مقاومت سطح بالا، انتروکوک فاسیوم بودند. ۱۲(۵۲/۲٪) و ۷ (۳۰/۴٪) انتروکوک به ترتیب دارای ژن van A و van B و ۳ (۱۳٪) انتروکوک نیز دارای هر دو ژن بودند.

نتیجه گیری: مهم‌ترین مکانیسم مقاومت سطح بالا نسبت به ونکومایسین در انتروکوک‌ها حضور ژن van می‌باشد که توانایی انتقال این ژن را در بین خود دارند و فنوتیپ مقاومت سطح بالا ارتباط نزدیکی با حضور ژن مذکور دارد و به دلیل این ارتباط بررسی در سطح مولکولی نیز برای مطالعه این مقاومت نیاز است.

کلمات کلیدی: انتروکوک، نمونه‌های بالینی، vanA,B,C,D and E، PCR، VRE

مقدمه

انتروکوک‌ها کوکسی های گرم مثبت و ساکنان طبیعی دستگاه گوارش انسان و گروهی از حیوانات می‌باشند. این باکتری فلور نرمال روده محسوب می‌شود و به صورت بی ضرر در روده انسان حضور دارد و وقتی می‌تواند مشکل آفرین باشد که به مکان دیگری غیر از محل زندگی خود وارد شود. ورود انتروکوک به خون، دستگاه ادراری و هر نقطه دیگر بدن مخصوصاً در افراد حساس می‌تواند سبب ایجاد عفونت گردد (۱).

عفونت‌های انتروکوکی به صورت بالقوه می‌تواند دو خطر را به همراه خود داشته باشند، اولاً عفونت در اندوکارد یا مننژ اتفاق بیافتد و مسئله دوم مقاومت‌های گسترده آنتی بیوتیکی این باکتری است که سبب شکست در درمان آنتی بیوتیکی این عفونت‌ها می‌شود (۲).

انتروکوک‌ها به طور ذاتی به سفالوسپورین ها، پنی سیلین های مقاوم به پنی سیلیناز و کلیندامایسین مقاومند (۳). نسبت به آمینوگلیکوزیدها مقاومتی در سطح پائین تر و در مقایسه با اکثر استرپتوکوک ها در برابر پنی سیلین ها مقاومت بیشتری دارند (۴).

تولید بتالاکتاماز توسط تعدادی از سویه‌های انتروکوک فکالیس و فاسیوم سبب بروز مشکلاتی جهت درمان عفونت‌های انتروکوکال حاد گردیده است. علاوه بر مقاومت به غلظت‌های بالای ونکوماسین و آمینوگلیکوزیدها، اکثر انتروکوک‌های با مقاومت سطح بالا به ونکومایسین (Vancomycin Resistant Enterococcus) مقاومتی با منشاء کروموزومی نسبت به پنی سیلین ها از خود نشان می‌دهند (۴).

مقاومت نسبت به ونکومایسین در انتروکوک از اهمیت بالائی برخوردار است، زیرا این آنتی بیوتیک یک راه درمان بسیار مؤثر بر علیه عفونت‌های ناشی از گرم مثبت‌ها به خصوص انتروکوک می‌باشد ولی در سال‌های اخیر شیوع مقاومت بر علیه این آنتی بیوتیک در این باکتری‌ها رو به افزایش است و علت این افزایش حضور ژن عامل مقاومت بر روی یک پلاسمید قابل انتقال می‌باشد (۵).

ژن مسئول ایجاد مقاومت به ونکومایسین، موسوم به ژن van می‌باشد که نوع A و B بر روی ترانسپوزون Tn1546 قرار دارند که توانائی ورود در پلاسمید کونژوگاتیو را دارد که این پلاسمید علاوه بر توانائی انتقال در بین گونه‌های مختلف انتروکوک، به جنس‌های دیگر باکتری از قبیل استافیلوکوک نیز منتقل می‌شود و باعث ایجاد استافیلوکوک های مقاوم

نویسنده مسئول: ایران، تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه باکتری شناسی پزشکی تلفن: ۸۲۸۸۳۸۶۲ ـ ۰۲۱ Email:mmobarez@modares.ac.ir

www.SID.ir
http://jfums.hbi.ir

Archive of SID

به ونکومایسین خواهد شد که خود یکی از مشکلات بزرگ درمان عفونت‌های خطرناک استافیلوکوکی است. این دو ژن سبب مقاومت سطح بالا به ونکومایسین می‌شوند اما ژن‌های نوع C,D و E باعث مقاومت سطح پایین به ونکومایسین شده و بر روی کروموزوم واقع شده‌اند (۶ و ۷).

ما در این مطالعه به بررسی شیوع انتروکوک‌های با مقاومت سطح بالا به ونکومایسین (VRE) و ژن‌های مسبب آن (vanA,B,C,D and E) در نمونه‌های بالینی جدا شده از بیمارستان‌های منتخب تهران پرداختیم.

مواد و روش‌ها

نمونه گیری: این مطالعه بر روی ۴۱۱ انتروکوک جمع آوری شده از مهر ماه ۱۳۸۳ لغایت مهرماه ۱۳۸۷ که از بیمارستان‌های لبافی نژاد، شهدای تجریش، شریعتی، بقیه الله، مرکز طبی کودکان و امیر اعلم تهیه شده بودند، انجام گرفت.

کشت و شناسائی: پس از کشت اولیه نمونه‌ها و جداسازی انتروکوک‌ها، سویه‌ها برای تأیید در محیط به ایل اسکولین آگار و محیط BHI (Brain Heart Infusion) براث حاوی نمک ۶/۵٪ کشت داده شد. فقط انتروکوک می‌تواند در محیط حاوی صفرا و نیز نمک ۶/۵٪ رشد کرده و اسکولین را مصرف کند.

تعیین گونه: تفاوت گونه‌های مختلف انتروکوک در مصرف قندها و تولید پیگمان کلید شناسائی آن‌ها می‌باشد. در این بررسی از آرابینوز و سوربیتول برای شناسائی گونه‌های مختلف انتروکوک و از محیط BHI آگار برای بررسی تولید پیگمان استفاده شد.

بررسی حساسیت آنتی بیوتیکی: برای غربالگری اولیه با روش انتشار دیسک، مقاومت انتروکوک‌ها نسبت به دیسک‌های ۳۰ میکروگرمی ونکومایسین که از شرکت (Mast,UK) تهیه شده بود بررسی شد. در مرحله بعد انتروکوک‌هائی که هاله عدم رشدی معادل ۱۴ میلی متر یا کمتر داشتند با آزمایش حداقل غلظت مهارکنندگی Minimum Inhibitory Concentration (MIC) با روش رقت سازی در آگار مورد بررسی قرار داده شدند و انتروکوک‌هایی که در غلظتی معادل ۱۶ میکروگرم بر میکرولیتر یا بیشتر از آنتی بیوتیک ونکومایسین رشدشان مهار شد، انتروکوک مقاوم به ونکومایسین (VRE) در نظر گرفته شدند.

بر روی انتروکوک‌های مقاوم به ونکومایسین با روش رقت سازی در آگار، الگوی مقاومت به تیکوپلانین با روش انتشار دیسک نیز مورد ارزیابی قرار گرفت، دیسک‌های ۳۰µgr تیکوپلانین از شرکت (Mast, UK) تهیه شده بود.

جداسازی DNA: در این بررسی برای جداسازی و استخراج DNA از کیت استخراج DNA TM شرکت سیناژن استفاده شد.

PCR: برای شناسائی ژن‌های vanA,B,C,D and E از آزمایش PCR استفاده شد تا حضور این ژن‌ها در انتروکوک‌های مقاوم مورد بررسی قرار گیرد، در این تحقیق از پنج جفت پرایمر برای شناسائی این پنج ژن استفاده شد. سپس محصول PCR در ژل آگارز ۱٪ و در آزمایش الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱).

جدول ۱: توالی آغازگرهای واکنش زنجیره پلیمراز

van A,B,C,D and E	PCR Product size	Reference
van A : Forward, 5'—AATACTGTTTGGGGGTT-GCTC-3'	PCR product 734 bp	18
van A : Reverse, 5'-CTTTTTCCGGCTC-GACTTCCT-3'	PCR product 734 bp	18
vanB: F, 5'-GCG GGG AGG ATG GTG CGA-3).	PCR product 420 bp	18
vanB : R, 5'-GGA AGA TAC CGT GGC TCA AAC-3).	PCR product 420 bp	18
vanC: F, 5- GAAAGACAA-CAGGAAGACCGC -3	PCR product 775 bp	18
vanC: F, 5- GAAAGACAA-CAGGAAGACCGC -3	PCR product 775 bp	18
van D: F, TTTGTA-AAGCCTGCCCGTTC	PCR product 327 bp	18
van D: R, CCAAGTAYCC-GGTAAATCTTC	PCR product 327 bp	18
van E: F, AAATAATGCTC-CATCAATTTGCTGA	PCR product 246 bp	18
vanE: R, ATAGTC-GAAAAAGCCATCCA-CAAG	PCR product 246 bp	18

*F= Forward, R=Reveres

www.SID.ir
http://jfums.hbi.ir

Archive of SID

نتایج:

از بین ۴۱۱ نمونه‌های بالینی، ۲۷۰ (۶۵٪) از ادرار، ۸۲ (۱۹/۹٪) از خون، ۵۳ (۱۲/۹٪) از زخم، ۳ (۰/۷٪) آسیت، ۱ (۰/۲٪) تراشه، ۱ (۰/۲٪) مدفوع و ۱ (۰/۲٪) ترشح مجرا وجود داشت (جدول ۲).

از ۲۳ انتروکوک دارای مقاومت سطح بالا به ونکومایسین (VRE)، ۱۵ (۶۵/۲٪) انتروکوک MIC۱۰۲۴ یا بالای ۱۰۲۴ داشتند، ۱۲ (۵۲/۱٪) انتروکوک به تیکوپلانین نیز مقاوم بودند و ۲ (۸/۷٪) انتروکوک دارای مقاومت متوسط به تیکوپلانین بودند.

جدول ۲: میزان جداسازی انتروکوک از نواحی مختلف بدن

محل عفونت	ترشح مجرا	مدفوع	تراشه	آسیت	زخم	خون	ادرار
پراکندگی عفونت در بدن	۱ (۰/۲٪)	۱ (۰/۲٪)	۱ (۰/۲٪)	۳ (۰/۷٪)	۵۳ (۱۲/۹٪)	۸۲ (۱۹/۹٪)	۲۷۰ (۶۵٪)

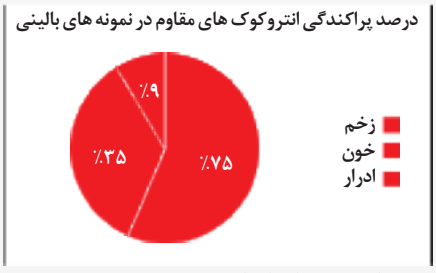
در این مطالعه از ۴۱۱ انتروکوک مورد مطالعه ۲۳(۵/۶٪) انتروکوک دارای مقاومت بالا به ونکومایسین (VRE) بودند که از بیماران بستری در بخش‌های ICU (۶ مورد)، خون و سرطان (۳ مورد)، پیوند کلیه (۲ مورد) و پیوند مغز استخوان (یک مورد)، جراحی اعصاب (یک مورد)، سرپایی (یک مورد)، نفرولوژی (یک مورد)، عفونی مردان (۳ مورد)، عفونی زنان (۲ مورد)، گوش زنان (یک مورد) و دیالیز (۲ مورد) جدا شدند (جدول ۳).

در PCR انتروکوک‌های مقاومت سطح بالا به ونکومایسین، ۱۲ (۵۲/۲٪) انتروکوک دارای ژن van A و ۷ (۳۰/۴٪) انتروکوک نیز دارای van B و ۳ (۱۳٪) انتروکوک نیز دارای هر دو ژن بودند. انجام آزمایش PCR برای ژن‌های van C,D,E به نتیجه مثبت منتج نشد (شکل ۱).

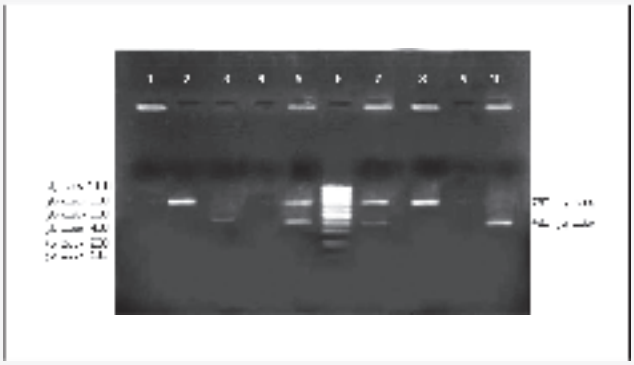
جدول ۳: میزان جداسازی انتروکوک با مقاومت سطح بالا از بخش های مختلف بیمارستانی

بخش	مراقبت‌های ویژه	خون و سرطان	پیوند کلیه	پیوند مغز استخوان	جراحی اعصاب	سرپایی	نفرولوژی	عفونی مردان	عفونی زنان	گوش زنان	دیالیز
تعداد	۶	۳	۲	۱	۱	۱	۱	۳	۲	۱	۲

از میان ۴۱۱ انتروکوک جدا شده از نمونه‌های بالینی ۱۸۵ (۴۵٪) انتروکوک با روش انتشار دیسک به ونکومایسین مقاوم بودند، اما با روش رقت سازی در آگار فقط ۲۳ (۵/۶٪) انتروکوک دارای مقاومت سطح بالا به ونکومایسین (VRE) بودند، و با تعیین گونه مشخص شد که تمامی ۲۳ انتروکوک مقاوم به ونکومایسین (VRE) انتروکوک فاسیوم هستند. از ۲۳ انتروکوک که با روش رقت سازی در آگار مقاوم به ونکومایسین (VRE) بودند، ۱۳ (۵۶/۵٪) انتروکوک از ادرار، ۸ (۳۴/۸٪) انتروکوک از خون و ۲ (۸/۷٪) انتروکوک از زخم جدا شدند (نمودار ۱).



نمودار ۱: درصد پراکندگی انتروکوک های مقاوم به ونکومایسین در نمونه‌های جدا شده از بیماران



شکل ۱: multiplex PCR از انتروکوک‌های با مقاومت سطح بالا نسبت به ونکومایسین جدا شده از نمونه‌های بالینی، چاهک ۲: انتروکوک فکالیس ATCC 51299 دارای ژن vanA با محصول ۷۳۴ جفت بازی، چاهک ۳: انتروکوک فاسیوم ATCC 51599 دارای ژن vanB با محصول ۴۲۰ جفت بازی، چاهک ۵ و ۷: انتروکوک فاسیوم دارای هر دو ژن vanA و vanB است که MIC بالای ۱۰۲۴ میکروگرم در میلی لیتر داشتند که نمونه شماره ۵ از خون و ۷ از ادرار جدا شده بود، چاهک ۸: انتروکوک فاسیوم دارای vanA جدا شده از ادرار با MIC بالای ۱۰۲۴ میکروگرم در میلی لیتر، چاهک ۱۰: انتروکوک فاسیوم دارای ژن vanB جدا شده از ادرار با MIC: 512 میکروگرم در میلی لیتر، چاهک ۶: نشانگر ۱۰۰ جفت بازی.

www.SID.ir
http://jfums.hbi.ir

Archive of SID

جدول ۴: مقایسه فنوتیپ مقاومت به ونکومایسین وتیکوپلانین
با ژنوتیپ انتروکوک های جدا شده از نمونه‌های بالینی

ژنوتیپ	تعداد	مقاومت به ونکومایسین	مقاوم به تیکوپلانین	مقاومت متوسط به تیکوپلانین	حساس به تیکوپلانین
van A+,B-,C-,D-,E-	۱۲	۱۲	۱۰	۲	۰
van A-,B+,C-,D-,E-	۷	۷	۱	۰	۶
vanA+,B+,C-,D-,E-	۳	۳	۲	۰	۱
van A-,B-,C-,D-,E-	۱	۱	۱	۰	۰

بحث

انتروکوک‌های مقاوم به ونکومایسین از سال ۱۹۸۶ مطرح شدند و اولین بار در بخش کلیه بیمارستانی در لندن به وجود این میکروارگانیسم‌ها پی بردند (۸).

شایع‌ترین مکان جداسازی انتروکوک‌ها دستگاه ادراری می‌باشد ولی انتروکوک‌ها می‌توانند باعث عفونت‌های جدی از جمله التهاب کیسه صفرا، التهاب مجاری صفراوی، پریتونیت، سپتی سمی، اندوکاردیت، مننژیت و عفونت زخم شوند. در دو دهه اخیر انتروکوک‌ها در ایجاد عفونت بیمارستانی مقام سوم را کسب کرده‌اند و پس از اشرشیاکلی و استافیلوکوک اورئوس قرار گرفته‌اند. انتروکوک‌ها مسئول ۱۲-۱۰٪ تمام عفونت‌های بیمارستانی، ۱۲-۱۰٪ عفونت‌های دستگاه ادراری کسب شده در بیمارستان و ۱۰-۵٪ عفونت خون در بیمارستان می‌باشند. مخزن انتروکوک‌ها روده بزرگ و اکثر عفونت‌های انتروکوکی منشاء داخلی دارند (۹).

در این مطالعه از بین ۴۱۱ انتروکوک جدا شده از نمونه‌های بالینی، ۲۷۰ (۶۵٪) از ادرار، ۸۲ (۱۹/۹٪) خون، ۵۳ (۱۲/۹٪) زخم، ۳ (۰/۷٪) آسیت، ۱ (۰/۲٪) تراشه، ۱ (۰/۲٪) مدفوع و ۱ (۰/۲٪) از ترشح مجرا جداسازی شد و تمام انتروکوک‌های با مقاومت سطح بالا انتروکوک فاسیوم بودند. در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۹-۲۰۰۱ در کویت صورت گرفت نیز از ۴۱۵ انتروکوک جدا شده ۸۵/۳ درصد انتروکوک فکالیس و ۷/۷ درصد انتروکوک فاسیوم و ۷ درصد نیز سایر انتروکوک‌ها گزارش شد، که بیشترین انتروکوک‌های جدا شده ۳۶/۶٪ از ادرار، ۱۲ درصد از مدفوع، ۱۱ درصد از زخم و ۱۰/۴ درصد از خون گزارش شده است (۱۰).

انتروکوک‌ها به ویژه انتروکوک فاسیوم به صورت ذاتی، مقاومت بالایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها نشان می‌دهند و توانایی کسب ژن‌های مقاومت از طریق پلاسمیدها و ترانسپوزون ها را نیز دارند، به طوری که امروزه مشاهده شده که مقاومت آنتی‌بیوتیکی به خصوص مقاومت به گلیکوپپتیدها (ونکومایسین و تیکوپلانین) در بین انتروکوک‌ها رو به افزایش می‌باشد.

امروزه انتروکوک‌های با مقاومت بالا به ونکومایسین (VRE) که باعث بیماری‌های عفونی می‌شود رو به افزایش است، به طوری که در سال ۱۹۹۸-۲۰۰۲ در آرژانتین میزان این مقاومت از ۰/۸٪ درصد به ۴/۹٪، در آمریکا در فاصله سال‌های ۱۹۸۹-۱۹۹۳ از ۰/۳٪ به ۷/۹٪ رسیده و در سال ۲۰۰۰ نیز حدود ۲۶/۳٪ از انتروکوک‌های جدا شده از ICU مقاوم به ونکومایسین بودند که یک افزایش ۳۱٪ را نسبت به سال‌های قبل نشان می‌داد با این حال مقاومت در کشورهای اروپائی به میزان پایین باقی مانده و حدود ۲٪ است که علت آن عدم استفاده آنتی بیوتیک های گلیکوپپتیدی مثل آووپارسین در غذای دام می‌باشد (۱۲ و ۱۱).

فاکتورهای مستعد کننده شامل اقامت طولانی در بیمارستان، استفاده کردن از آنتی‌بیوتیک‌ها، اعمال جراحی، همودیالیز، مصرف مترونیدازول، بیماری‌های زمینه‌ای، ابتلا به سرطان، دریافت پیوند و داروهای سرکوب کننده سیستم دفاعی می‌توانند از عوامل احتمالی مستعد کننده ابتلا به عفونت انتروکوکی باشند.

از بین انتروکوک فاسیوم های جدا شده دارای مقاومت سطح بالا، ۵۲/۲٪ دارای ژن vanA، ۳۰/۴٪ vanB و ۱۳٪ نیز دارای هر دو ژن بودند. آزمایش PCR برای ژن‌های vanC,E,D منفی شد. در آمریکا انتروکوک‌های مقاوم به ونکومایسین دارای فنوتیپ ۲۵٪ vanA گزارش شده است و به طور متوسط در حدود ۱۰ در صد از انتروکوک‌های مقاوم به ونکومایسین دارای فنوتایپ vanB می‌باشند (۱۳).

ژنوتیپ vanA و vanB اکتسابی و قابل انتقال به انتروکوک‌های دیگر و حتی در محیط invitro به استاف MRSA می‌باشد، لذا درمان این بیماران و جلوگیری از آلودگی دیگران بسیار مهم می‌باشد.

لازم به ذکر است انتروکوک‌های مقاوم به ونکومایسین که دارای فنوتیپ های vanA,B,C نبودند، به احتمال زیاد از طریق افزایش ساخت پپتیدوگلیکان دیواره سلولی به گلیکوپپتیدها مقاوم شده‌اند (۱۳).

در این مطالعه از مجموع ۲۳ انتروکوک با مقاومت سطح بالا (VRE) مقاوم به ونکومایسین ۱۲(۵۲/۲٪) سویه دارای ژنوتیپ van A+,B+,C-,D-,E- بودند، که در میان این‌ها انتروکوک حساس به تیکوپلانین دیده نشد و فقط دو نمونه دارای مقاومت متوسط به تیکوپلانین بودند که یکی ۵۱۲MIC و یک نمونه نیز ۱۰۲۴ میکروگرم بر میلی لیتر نسبت به ونکومایسین داشتند مابقی سویه‌ها با این ژنوتیپ MIC بین ۲۵۶-۱۰۲۴ میکروگرم بر میلی لیتر داشتند.

ژنوتیپ van A-,B+,C-,D-,E- ۷(۳۰/۴٪) سویه را به خود اختصاص داد و در این ژنوتیپ تمامی سویه‌ها به جز یک سویه به تیکوپلانین حساس بودند، سویه مقاوم، ۱۰۲۴MIC میکروگرم بر میلی لیتر نسبت به ونکومایسین داشت، بقیه سویه‌ها MIC بین ۱۲۸-۱۰۲۴ میکروگرم بر میلی لیتر داشتند.

ژنوتیپ van A+,B+,C-,D-,E- ۳ (۱۳٪) سویه بود و در این میان یک سویه به تیکوپلانین حساس و دو سویه به این آنتی بیوتیک مقاوم بودند، سویه حساس دارای ۵۱۲MIC میکروگرم بر میلی لیتر نسبت به ونکومایسین داشت و سویه‌های مقاوم تماماً ۱۰۲۴MIC میکروگرم بر میلی لیتر نسبت به ونکومایسین داشتند. احتمالاً فعالیت و یا عدم فعالیت این دو ژن سبب این تغییرات فنوتیپی می‌شود. البته در مطالعه‌ای که در برزیل در سال ۲۰۰۶ انجام شده دو سویه انتروکوک فکالیس با ژنوتیپ van A ولی حساس به تیکوپلانین (فنوتیپ Van B) گزارش شده است (۱۶).

www.SID.ir
http://jfums.hbi.ir

Archive of SID

یک سویه دارای ژنوتیپ van A-,B-,C-,D-,E- بود که دارای ۱۰۲۴MIC میکروگرم بر میلی لیتر نسبت به ونکومایسین و به تیکوپلانین نیز مقاوم بود. در یک مطالعه که در سال ۱۹۹۳ در برزیل انجام شد یک ژن که همولوژی با ژن‌های van A,B,C داشت کشف شد که باعث مقاومت به ونکومایسین می‌شد ولی مقاومت به تیکوپلانین را سبب نمی‌شد (۱۷).

نتیجه‌گیری

ارتباط نزدیک بین حضور ژن van و فنوتیپ مقاومت به ونکومایسین و همچنین انتشـار این ژن در بیـن انتروکوک‌ها و حتی گونه‌هـای دیگر باکتریایی از اهمیت بالایی برخوردار است و همان‌طور که در این مطالعه مشخص شد مکانیسم‌های دیگری نیز برای ایجاد مقاومت به ونکومایسین وجود دارد که باید مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه تربیت مدرس به دلیل حمایت مالی از پروژه و از کارشناسان بخش میکروبشناسی در بیمارستان‌های شهدای تجریش، امیر اعلم، شریعتی، لبافی نژاد، بقیه الله و مرکز طبی اطفال که در جمع آوری انتروکوکسی ها نهایت همکاری را داشتند تشکر می‌نمایم.

Reference:

1. Hayden MK. Insights into the epidemiology and control infection with vancomycin-resistant Enterococci. Clin Infect Disease. 2000;31:1058-1065.
2. Vilela M.A, Souza S.L, Palazzo I.C.V, Ferreira J.C , Morais M.A, Darini A.L.C, Morais M.C. Identification and molecular characterization of Van A-typevancomycin-resistant Enterococcus faecalis in Northeast of Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2006;101(7) :716-719.
3. Murray BE. The life and times of Enterococcus. Clin Microbiol Rev. 1990;3:46- 65.
4. Zervos MJ, Schaberg DR. Reversal of the in vitro susceptibility of Enterococci to trimethoprim- sulfamethoxazole by folinic acid. Antimicrob Agents Chemother. 1985;28:446-448.
5. Leclercq R, Courvalin P. Resistance to glycopeptides in Enterococci. Clinical Infection Disease. 1997;94:245-556.
6. Murray PR. Manual of clinical microbioloty. Washington D.C. 6th ed. 1995:172-174.
7. Viera T. Restoration of vancomycin susceptibility in Enterococcus feacalis by anti resistant determinant gene transfer. Antimicrobial and chemotherapy. 2001;973-976.
8. Tendolkav A. Pathogenic Enterococci: new development in the 21th century. CMLS. 2003;60:001-15.
9. Leclercq R, Courvalin P. Resistance to glycopeptides in Enterococci. Clinical Infection Disease. 1997;94:245-556.
10. Leblank DJ, Lee LN, Inamin M. Cloning and nucleotide sequence analysis of aspectinomycin adenyltransferase AAD (9) determinant from Enterococcus faecalis. Antimicrob Agents Chemother. 1991;35:1804-1810.
11. Corso A, Faccon D, Gagetti P, Togneri A, Lopardo H, Melano R, et al. First report of vanA Enterococcus gallinarum dissemination within an intensive care unit in Argentina. 2005;51-56.
12. Kuhn I , Iversen A , Finn M , Greko C , Burman LG , Blanch AR , et al. Occurrence and relatedness of vancomycin–resistant Enterococci in animals, humans and the environ
mental in different European regions. Appl Environ Microbiol. 2005;71:5383-5390.
13. Barbara E, Marray MD. Vancomycin-resistant enterococal Infections. J of Medicine. 2000;710-718.
14. Foglia G, Del Grosso M, Vignaroli C, Bagnarelli P, Varaldo PE, Pantosti A, et al. Molecular analysis of Tn 1546 like element mediating high level vancomycin resistance in Enterococcus gallinarum. J Antimicrob Chemother. 2003;52:772-775.
15. Dutka-Malen S, Balimont B, Wauters G, Courvalin P. Emergence of high-level resistance to glycopeptide in Enterococcus gallinarum and Enterococcus casseliflavous. Antimicrob Agent Chemoter. 1994;38:1675-7.
16. Cobo Zanella1 R, Castro Lima M, Tegani1 L, Hitomi A, Brandileone M, Palazzoi, et al. Emergence of Van B phenotype Van A genotype in vancomycin resistant Enterococci in Brazilian hospital. Brazilian Journal of Microbiology. 2006;37:117-118.
17. Gold HS, Unal S, Cercenado E, Eliopoulos C, Eliopoulos GM, Wennersten CB, et al. A Gene conferring resistance to vancomycin but not teicoplanin in isolates of Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium demonstrates homology with vanB, vanA, and vanC genes of Enterococci. Antimicronial Agents and chemotherapy. 1993;37(8) :1604-1609.
18. Saeed Khan A, Mohamed Nawaz S, Ashraf Khan A, Sherryll Hopper L, Roger Jones A, Carl Cerniglia E. Molecular characterization of multidrug-resistant Enterococcus spp. From poultry and dairy farms: detection of virulence and vancomycin resistance gene markers by PCR. Prob. 2004;1- 8.

www.SID.ir

Archive of SID

Original Article

Epidemiologic Evaluation of Vancomycin Resistant Genes in Enterococcus spp. Isolated from Clinical Samples

Teymournejad Omid [1], Mohabati Mobarez Ashraf [2*], Hosseini Doust Reza [3]

1- PhD student of Bacteriology, Dept of Bacteriology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
2- Associate Professor, Dept of Bacteriology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
3- Professor, Dept of Microbiology, Islamic Azad University of Pharmaceutical Sciences, Tehran, Iran.

Abstract

Background & Objectives: Isolation of vancomycin resistant Enterococcus from clinical samples is very important. The aim of this study was evaluation of phenotype and genotype of van genes in vancomycine resistant Enterococcus.

Materials and Methods: 411 Enterococcus isolates were collected from selected Tehran's hospitals between March 2004 and December 2007. The enterococcal isolates were identified by biochemical confirmation tests. Resistance of each isolate to vancomycin determined by disk diffusion and agar dilution test. The presence of the vanA, B, C, D, E resistance gene was assessed by PCR.

Results: 185(45%) and 23(5.6%) with disc-diffusion method and agar-dilution method were resistant to vancomucin (VRE) and all of VREs were Enterococcus faecium. 12 (52.2%), 7(30.4%) of the VRE isolates had vanA, vanB and 3(13%) had both of vanA and vanB gene.

Conclusion: Most important mechanism for high level resistance to vancomycin is presence of van genes and these genes can transfer between Enterococci. Significance of investigation in molecular level of resistance to vancomycin was due to relation between phenotypic resistant and presence of van genes.

Keywords: Enterococcus, Clinical sample, VRE, PCR, vanA, B, C, D, E

Corresponding author: Mohabati Mobarez Ashraf, Dept of Bacteriology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
Tel: +98 21 82883862
Fax: + 98 21 82884555
E-mail:mmmobarez@modares.ac.ir

www.SID.ir
http://jfums.hbi.ir