بررسی وجود ژن aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia در سویه های انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فیسیوم چند مقاومتی و مقاوم به مقادیر بالای جنتامایسین

مهناز سیفی[1]، محمد رضا پورشفیع[2]، کتایون برهانی[2]، فاتح رحیمی[2]، محمد مهدی سلطان دلال[1] *

۱) بخش باکتری شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت دانشگاه تهران
۲) بخش باکتری شناسی، انستیتو پاستور ایران
نویسنده رابط: محمد مهدی سلطان دلال، بخش باکتری شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت دانشگاه تهران
تلفن: ۰۹۱۲۱۴۵۲۶۴۶ – ۶۶۴۶۵۴۰۴ soltanda@tums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۸۶/۳/۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۶/۳/۲۲

چکیده:

زمینه و اهداف: انتروککها نقش مهمی را در ایجاد عفونت های بیمارستانی دارند و وجود سویه های چند مقاومتی در بین آنها، درمان این نوع عفونتها را به یک معضل بهداشتی تبدیل کرده است. انتروککها می توانند برخی ژنهای مقاومت به آمینوگلیکوزیدها را بصورت اکتسابی بدست آورند . محصول این ژنها آنزیمهایی هستند که باعث تغییر در ساختار آمینوگلیکوزیدها شده ودر نهایت این امر منجر به حذف اثر سینرژیسم باکتریسیدال خواهد شد. یکی از مهمترین ژنهای ایجاد کننده مقاومت به مقادیر بالای جنتامایسین aac(6')-Ie-aph(2")-Ia است. هدف از این مطالعه بررسی شیوع سویه های آنتروکوکوس فکالیس و آنتروکوکوس فسیوم چند مقاومتی و همچنین مقاوم به مقادیر بالای جنتامایسین در نمونه های کلینیکی با تاکید بر روی وجود ژن aac(6')-Ie-aph(2")-Ia می باشد.

روش بررسی: بدنبال کشت اولیه۴۳۷ نمونه بالینی ارجاع شده به ۵ بیمارستان و ۳ آزمایشگاه خصوصی در شهر تهران، جمعا ۳۰۰ سویه انتروکک جداسازی گردید و پس از انجام آزمایشات بیوشیمیایی و تعیین جنس و گونه باکتری ، با استفاده از روش دیسک دیفوزیون تست سنجش حساسیت آنتی بیوتیکی برای ۱۱ آنتی بیوتیک آمپی سیلین ، تتراسیکلین ، اریترومایسین ،سیپروفلوکسازین ،جنتامایسین دوز بالا ،ونکومایسین، کوتریموکسازول،کوئینو پریستین – دالفو پریستین (سینرسید)، لینه زولید، تیکوپلانین و نیتروفورانتوئین انجام شد. مکانیزم مولکولی مقاومت به جنتامایسن با دوز بالا در دو گونه ذکر شده توسط تشخیص ژن aac(6')-Ie-aph(2")-Ia با روش PCR بررسی گردید.

یافته ها: در مجموع کل سویه های بدست آمده، درصد گونه فکالیس در مقایسه با گونه فیسیوم به ترتیب ۸۱/۳٪ و ۱۸/۷٪ بود. گونه های فیسیوم مقاومت نسبتا بالاتری به آنتی بیوتیک ها ی مورد مطالعه در مقایسه با گونه های فکالیس نشان دادند. درصد سویه های چند مقاومتی در گونه فکالیس ۵۰٪ و در گونه فیسیوم ۹۵٪ بدست آمد. این ارقام در خصوص سویه های مقاوم به مقادیر بالای جنتامایسین به ترتیب ۱۹/۵ و۲۳/۵ درصد بودند و کلیه این سویه ها دارای MICبالاتر از ۱۰۲۴ میکروگرم در میلی لیتر بودند. ۸۳ درصد از سویه های فکالیس و ۱۰۰ درصد از سویه های فیسیوم دارای ژن aac(6')-Ie-aph(2")-Ia بودند.

نتیجه گیری: با توجه به درصد بالای سویه های چند مقاومتی و HLGR در بین جمعیت انتروککی مورد مطالعه و همچنین شیوع بالای ژن aac(6')-Ie-aph(2")-Iaدر بین سویه ها ی HLGR ،نشان دهنده ارتباط قوی این ژن با ایجاد مقاومت به مقادیر بالای جنتامایسین است که این خود بیانگر این نگرانی است که چنانچه در طول زمان، انتقال این ژن به سویه های حساس به جنتامایسین با روندی فزاینده اتفاق بیفتد، با مشکلات اساسی در درمان این نوع عفونتها مواجه خواهیم شد و این قضیه در دراز مدت نیاز به پیدایش نسل های تازه از آمینوگلیکوزیدها ویا آنتی بیوتیکهای جدید را می طلبد.

کلید واژه ها: انتروکوکوس، چند مقاومتی، مقاوم به مقادیر بالای جنتامایسین

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه:

انتروککها جـزء پاتوژنهـای بسـیار مهـم در عفونتهـای بیمارسـتانی هستند . منبع اصلی این عفونت ها اغلب فلور نرمال گوارشی افـراد است. طبق آمارهای موجود انتروکوکوس فکـالیس و انتروکوکـوس فیسـیوم بـه ترتیـب مسـئول ۹۰ و ۱۰-۵ درصـد از عفونـت هـای انتروککی هستند(۱). مشخص شده انتروککها توانایی بسیار بـالایی برای کسب مقاومت هـای آنتـی بیـوتیکی جدیـد داشـته و انتقـال دهندگان مهمی نیز در مورد انواع ژنهای مقاومت به آنتی بیوتیک ها به حساب می آیند. این گروه از باکتریها در حال افزایش مقاومت به سه گروه دارویی موثر در درمان عفونت های انتروککی یعنـی پنـی سـیلین هـا ،آمینـو گلیکوزیـدها و گلیکـو پپتیـدها هسـتند(۳و2). انتروککها بدلیل نقص در ترانسپورت فعال از غشای سیتوپلاسمی ، بصورت ذاتی به مقادیر پـایین آمینوگلیکوزیـدها مقـاوم بـوده و بـه همین علت به تنهـایی در درمـان عفونـت هـای انتروککـی ناکـافی هستند ولی در ترکیب با ممانعت کننده های سنتز سل وال که ورود آنها را بـه سـلول تسـهیل مـی کنـد از مـوثرترین درمانهـای رایـج میباشند(۴). متاسفانه این اثر سینرژیسم وقتی انتروککها مقاومت بـه مقـادیر بـالای جنتامایسـین MIC>512 راکسـب کننـد وجـود ندارد(۳). این مسئله خطر جدی را در درمان عفونت های انتروککی مطـرح سـاخته اسـت. مکـانیزم اصـلی در ایجـاد مقاومـت بـه آمینوگلیکوزیدها ،غیرفعال شدن دارو توسط آنزیمهـای ترشـحی از باکتری است که توسط ژنهای خاصی کد می شـوند. در انتروککهـا ژن aac(6')-le-aph(2")-la نقش اصلی را در پیدایش مقاومـت نسبت به دوز بالای جنتامایسین دارد ولی در سـالهای اخیـر نقـش چند ژن دیگـر نیـز در ایـن قضـیه مشـخص شـده اسـت(۵). ژن aac(6')-le-aph(2")-la در اکثریـت سـویه هـای مقـاوم بـه جنتامایسین پلاسـمیدی اسـت و بـر روی ترانسـپوزون Tn 4001 استافیلوککی قرار دارد(۶).

مواد و روش ها:

جداسـازی و تشـخیص بـاکتری: از۴۳۷ نمونـه ارجـاع شـده بـه ۵ بیمارستان و ۳ آزمایشگاه خصوصی در تهران از آذر ماه ۱۳۸۴ الـی تیر ماه ۱۳۸۵ ، در مجموع ۳۰۰ سویه انتروکک جداسـازی گردیـد. نمونه ها شامل ادرار ، زخم، خون ، مجرا ،آبسـه،لاواژ ریـه و مـایع مفصل بودند.

جداسازی سویه ها بااستفاده از محیط کشت بلاد آگـار وتشـخیص فنوتیپی آنها با بکارگیری تستهای کاتـالاز، PYR ، هیـدرولیزبایل اسکولین، رشد برروی محیط نمک ۶/۵٪ و تخمیر قندها با اسـتفاده از استانداردهای بین المللی بود.

تست سنجش حساسـیت آنتـی بیـوتیکی: بـا اسـتفاده از جـداول CLSI وبـرای ۱۱ آنتـی بیوتیـک آمپـی سـیلین، تتراسـیکلین، اریترومایسین، سیپروفلوکسازین، جنتامایسین دوز بالا، ونکومایسین، کوتریموکسازول، کوئینو پریستین – دالفو پریستین (سینرسید)، لینه زولید، تیکوپلانین و نیتروفورانتوئین و بر روی محیط مولر هینتـون آگار انجام شد . کنترل کیفی دیسکهای آنتی بیوگرام بـا اسـتفاده از سـویه هـای اسـتاندارد اسـتافیلوکوکوس ارئـوس ۲۵۹۲۳ و انتروکوکوس فکالیس ۲۹۲۱۲ انجام گرفت.

MIC سویه ها

برای سویه هایی که در روش دیسک دیفوزیون مقاوم بـه دیسـک جنتامایسـین ۱۲۰ میکروگـرم بودنـد ،MIC بـه روش microdilution بر اساس استاندارد CLSI انجام شد.

تشخیص ژن aac(6')-le-aph(2")-la توسط روش PCR جهت تهیه DNA ژنومیک باکتری با اسـتفاده از پروتکـل انسـتیتو پاستور پاریس(۷)، چند کلنی از آن بـر روی ۱۰ میلـی لیتـر محـیط BHI مایع کشت داده میشـد. پـس از ۲۴ سـاعت انکوباسـیون در دمـای ۳۷ درجـه سـانتیگراد از ۳ میلـی لیتـر ایـن کشـت توسـط سانتریفیوژ در ۴۰۰۰rpm بمدت ۲۰ دقیقه رسوب گیری بـه عمـل می آمد.سپس به رسوب ۱۰ میلی مـولار تـریس –HCl، ۱ میلـی مـولار EDTA ، ۵۰٪ سـوکروز ، ۲۰ میلـی گـرم در میلـی لیتـر لیزوزیم و ۱۰ درصد SDS افزوده وبا شیکر بخوبی مخلوط نموده ، ۱۰ دقیقه روی یخ قـرار میـدهیم. پـس از آن ۲۰ دقیقـه در rpm ۴۰۰۰ سـانتریفیوژ نمـوده ، مـایع رویـی را برداشـته و بـا افـزودن مخلوط فنل و کلروفرم DNA را استخراج می کنیم. یک میکرولیتر از این DNA برای واکنش PCR کافی اسـت. سـکانس پرایمـر های مورد استفاده در واکنش PCR بـرای تشـخیص وجـود ژن aac(6')-le-aph(2")-la ، شـامل CCTCGTGTAATTCATGTTCTGGC و CAGAGCCTTGGGAAGATGAAG و محصول نهایی تکثیر، با حضور قطعه ای با وزن مولکولی ۳۴۸bp نشـان دهنـده وجود این ژن بود (۵).

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیترانجام میشـد و ترکیـب آن شامل ۲/۵ پیکومول از هر پرایمر ، ۱/۵ میلـی مـول MgCl2 ، ۰/۴ میلی مول از dNTP ، ۲/۵ میکرولیتر بافرو ۲ واحد از آنـزیم Taq polymerase بـود. سـویه اسـتاندارد JH2-102/

Archive of SID

www.SID.ir

p1P800+plP802 نیـز بعنـوان کنتـرل مثبـت در ایـن واکنشـها استفاده میشد.سیکل واکنش زنجیره پلیمراز،از دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه شـروع شـده وبـه تعـداد ۳۵ سیکل به شرح زیر ادامه مییافت. ۹۴ درجه ۴۰ ثانیـه،۵۵ درجـه ۴۰ ثانیه و ۷۲ درجه ۴۰ ثانیه و در نهایت با ۷۲ درجه بمدت ۲ دقیقـه پایان می یافت(۵). محصول PCR با وزن ۳۴۸bp بر روی آگـاز ۱/۵ ٪در مقابـل مـارکر وزن مولکـولی DNA ladder مـورد الکتروفورز قرار می گرفت. و ژل آگـارز بااتیـدیوم بروماید رنـگ آمیزی شدهو قطعـات DNA بااسـتفاده از نـور UV رویـت مـی شدند.

یافته ها:

از کل نمونه های بالینی مورد مطالعه، ادرار درصدغالب وپس از آن زخم وخون و سایر نمونه ها درصد های پـایین تـری را بـه خـود اختصاص دادند.(جدول ۱).

از بین سویه های جداشده۸۱/۳٪ (۲۴۷ مورد) به گونه فکـالیس و ۱۸/۷٪(۵۳مورد) به گونه فیسیوم اختصاص داشـت. درصـد سـویه های MDR و HLGR در خصوص گونه فکالیس به ترتیب ۵۰٪ (۱۲۴ مورد) و۱۹/۵٪ (۴۸ مورد) ودر مورد گونه هـای فیسـیوم بـه ترتیب ۹۵٪(۵۰ مورد) و ۲۳/۵٪ (۱۳ مورد) بود.(جدول ۲).

بررسی مقاومت به ۱۱ نوع آنتی بیوتیک مختلف از جمله دو داروی جدید لینه زولید و کوئینو پریستین –دالفوپزیستین (سینرسید) نشان داد که مقاومت آنتی بیوتیکی در بین سویه هـای فیسـیوم بـالاتر از موارد مشابه در گونه فکالیس است. در گونه فکالیس مقاومت بـین ۶۰—۱۹/۵درصـد بـه ترتیـب نسـبت بـه جنتامایسـین ،سیپروفلوکسازین ، کوتریموکسازول ،اریترومایسـین وتتراسـیکلین وجود داشت. درحالیکـه در گونـه فیسـیوم مقاومـت بـین ۲۳/۵-۱۳/۵درصـد بـه ترتیـب نسـبت بـه کوتریموکسـازول ،آمپـی سیلین،سیپروفلوکسازین ،اریترومایسین،ونکومایسین و جنتامایسـین بود. مقاومت نسبت به دو داروی جدید سینرسید و لینـه زولیـد در گونه فکالیس به ترتیب ۱۰۰ و۲/۵ درصـد و در گونـه فیسـیوم بـه ترتیب ۱و صفر درصد بود.(جدول ۳)

در آزمایش PCR برای تشخیص ژن aac(6')-le-aph(2")-la ،از کل سویه های HLGR در گونه فکالیس ۸۳٪ و در گونـه فیسیوم ۱۰۰٪ این ژن را داشتند.

جدول ۱- انواع نمونه هاي باليني مورد مطالعه

نوع نمونه	تعداد(%)
ادرار	۲۸۶ (۹۵/۴)
زخم	۵ (۱/۶)
خون	۴(۱/۵)
مجرا	۲ (۰/۶)
آبسه	۱ (۰/۳)
لاواژ ریه	۱ (۰/۳)
مایع مفصل	۱ (۰/۳)

جدول ۲- درصد مقاومت به انواع آنتي بيوتيكها در دو گونه

انتروکوکوس فیسیوم (%)	انتروکوکوس فکالیس (%)	نوع آنتي بيوتيك (ميكروگرم)
۱۵	۱/۳	آمپي سيلين ۱۰
۹/۵	۶۰	تتراسيكلين ۳۰
۱۶/۵	۳۶/۵	اريترومايسين ۱۵
۱۶	۲۴/۵	سيپروفلوكسازين ۵
۲۳/۵	۱۹/۵	جنتامايسين ۱۲۰
۲۱/۵	۷/۵	ونكومايسين ۳۰
۱۳/۵	۳۰/۵	كوتريموكسازول ۱/۲۵ - ۲۳/۷۵
۱	۱۰۰	سينرسيد ۱۵
صفر	۲/۵	لينه زوليد ۳۰
۱۴	۵/۵	تيكوپلانين ۳۰
۲	۰/۵	نيتروفورانتوئين ۳۰۰

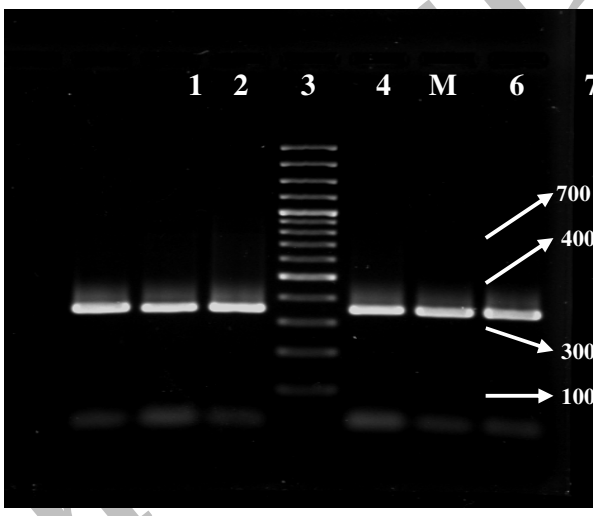
Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳ –درصد سويه هاي MDR و HLGR در بين دو گونه انتروككي

گروه	انتروکوکوس فکالیس (%)	انتروکوکوس فیسیوم (%)
کل	(۸۱/۳) ۲۴۷	(۱۸/۷) ۵۳
چند مقاومتي ها (MDR)	(۵۰) ۱۲۴	(۹۵) ۵۰
مقاوم به جنتامایسین دوز بالا(HLGR)	(۱۹/۵) ۵۹	(۲۳/۵) ۷۰

عکس ۱ : PCR جهت ژن **aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia**



بحث:

برای سیستم مراقبت بهداشتی هر جامعه بسیار لازم وضروری است تا عوامل مهم و شایع پاتوژنهای بیمارستانی را شناسایی نموده و الگوی دقیق مقاومت آنتی بیوتیکی آنها را مشخص نمایند تا بتوانند درمان موثری را جهت کنترل آنها بکار گیرند. (۸)

تا چندی قبل آمپی سیلین همراه با جنتامایسین یا استرپتومایسین بعنوان اولین داروهای انتخابی در درمان عفونت های حاد انتروککی بشمار می رفتند ولی از زمانیکه سویه های مقاوم به هر کدام از این داروها شیوع بالایی پیدا کرده اند اثر سینرژیسم درمانی آنها خنثی شده و درمان آنتی بیوتیکی با مشکلات فراوانی مواجه شده است(۹). در این میان سویه های مقاوم به آمینو گلیکوزیدها و بخصوص جنتامایسین با دوز بالا در سالهای اخیر محور تحقیق بسیاری از محققین را به خود اختصاص داده است بدیهی است که نه تنها شناسایی ژنهای ایجاد کننده این مقاومتها نسبت به انواع آمینوگلیکوزیدها بلکه راهها و فرکانس انتقال آنها نیز مد نظر بوده است(۵).

در مطالعه حاضر اکثریت سویه های جدا شده به گونه فکالیس با ۸۱/۳٪ اختصاص داشت که در مطالعات مشابه این ارقام چندان تفاوتی را نشان نمی دهند. در مطالعه ای در برزیل اکثریت نمونه ها ۷۰/۳ ٪ از ادرار و ۲۰/۷ ٪ از سایر موارد مثل خون ء کاتتر و.... جدا شده بودند و اکثریت سویه ها با گونه فکالیس با ۹۲/۸ ٪ بود. در این مطالعه سویه های مقاوم به جنتامایسن با دوز بالا ۲۲/۸ ٪ بودند(۱۰).

Archive of SID

www.SID.ir

محققین امریکایی در سال ۲۰۰۳ از ۳۶۰ سویه انتروکک ۲۵۹ مورد HLGR گـزارش کردنـد کـه MIC آنهـا بـین ۱۰۲۴- ۱۲۸ میکروگرم در میلی لیتر بود. ۷۵ درصداز گونه های فکـالیس و ۶۳ درصد از گونه های فیسیوم دارای ژن aac(6')-le-aph(2")-la بودند (۱۱). در بررسی ما ایـن ژن در ۱۰۰ درصـد از سـویه هـای فیسیوم و ۸۳ درصد از گونه های فکـالیس دیـده شـد. ایـن قضـیه بیانگر جایگاه ویژه این ژن بعنوان مخزن ژن مقاومـت و انتقـال آن به سایر سویه ها می باشد. بررسی راهها و فرکانس این انتقـال نیـز بسیار مهم است.

در تحقیقی در ایتالیا از ۹۱ سویه انتروکک کلینیکی ۴۳٪ از فکالیس ها و ۵۲ ٪ از فیسیوم ها HLGR بودند (۱۲)و در مـوردی مشـابه در کویت از ۱۱۷ سویه انتروکـک ۱۰۹ سـویه فکـالیس و ۷ سـویه فیسیوم و بقیه شامل گونه های دیگر بودند. در این میـان ۵۵ سـویه HLGRمشاهده شد که همگی MIC بـالای ۵۰۰ میکروگـرم در میلی لیتر داشتند(۱۲).

در مطالعـه Zarrilli در سـال ۲۰۰۳ هـیچ انتروکوکـوس فیسـیوم مقاوم به آمپی سیلین گزارش نشد و این در حالی بود که ۲۲ درصد از گونه فکالیس HLGR بودند که به گفته این محقق ایـن رقـم در مطالعات مختلف بـین ۱۴-۴۱ درصـد(۱۲) و بـه گفتـه محقـق دیگـری بـین ۱-۴۸ درصـد (۱۳) نوسـان دارد. مقاومـت بـه سیپروفلوکسازین ء تتراسیکلین و اریترومایسین در بین هر دو سویه شایع و برای تتراسیکلین و سیپروفلوکسازین به ترتیب ۹۸٪ و ۶۶٪ بوده است. در این تحقیق در مورد آمپی سیلین ۱۲ درصد مقاومـت در بین سویه های فکالیس گزارش شده اسـت(۱۲) در حالیکـه در تحقیق ما فقط ۱/۳ درصد از فکالیس ها و ۱۵ درصد از فیسیوم هـا مقاوم به آمپی سیلین بودند که کاملا متفاوت اسـت . در ایتالیـا ۱۷ درصد از سویه های فکالیس مقاوم به آمپی سیلین گـزارش شـدند (۹).

در سالهای۱۹۸۵-۱۹۸۶ مقاومت به سیپروفلوکسازین در سویه های انتروکک بسیار محدود و حدود ۱/۴ ٪ از آنها HLGR بودند ولی این رقم در سالهای ۱۹۸۹-۱۹۹۰ افزایش یافته و بـه ۱۵/۲ ٪ رسـید و این بـار دیگـر اغلـب ایـن سـویه هـا HLGRگـزارش شـدند. مقاومت در بین سویه های فکالیس جداشده در این مطالعه نسـبت به سیپروفلوکسازین ۲۴/۵٪ و در سـویه هـای فیسـیوم ۱۶٪ بودکـه سیر افزایشی موجود در مطالعه schaberg را نشان می دهد(۱۴).

در طی مطالعه ای درایتالیا در بین سویه های مقـاوم و حسـاس بـه ونکومایس مقاومت به سایر آنتی بیوتیک هـا مقایسـه شـده اسـت. براین اساس در سویه های فیسیوم مقاوم بـه ونکومایسـین درصـد مقاومـت بـه آمپـی سـیلینء جنتامایسـینء سیپروفلوکسـازینء تتراسیکلینء اریترو مایسین و کوتریموکسازول به ترتیب ۸۱ء ۴۰ ء ۸۱ ء ۸۷ ء ۸۷ و ۶۷ درصد و در سویه های فیسـیوم حسـاس بـه ونکومایسـین بـه ترتیـب ۷۱ ء ۱۴ء ۷۱ء ۷۱ ء ۱۰۰ و ۱۰۰ درصـد بوده است که در مورد گونـه فکـالیس ایـن درصـدها همـه بسـیار پاییینتر بوده است. در این میان سویه های چند مقاومتی و مقاوم به ۴ آنتی بیوتیک یـا بـیش از آن حـدود ۹۰ درصـد بودنـد (۱۵). در مطالعه ما سویه های فکالیس ۷/۵ ٪ و سـویه هـای فیسـیوم ۲۱/۵٪ نسبت به ونکومایسین مقاومت داشتند و تعداد چند مقاومتی هـا در بین فیسیومها بیشتر بود. همچنین درصـد مقاومـت بـه سـایر آنتـی بیوتیکها نیز در بین گونه فیسوم ارقام بالاتری را نشان می دهد.

در مطالعه دیگری در یونان در طی یکسال از ۵۵ گونـه فکـالیس و ۲۱ گونه فیسیوم که اکثرا از ادرار جدا شـده بودنـدءهیچ سـویه ای مقاوم به ونکومایسین گزارش نشد ولـی ۲۲ سـویه از فکـالیس هـا HLGR بـودو ژن aac(6')-le-aph(2")-la در ۱۰ سـویه از فکالیس ها مشاهده شد.(۱۶)

با افزایش تعـدد و شـیوع ژنهـای مقاومـت بـه آمینوگلیکوزیـدها و بخصوص جنتامایسین در بین ایزوله های کلینیکی ء امروزه استفاده از این داروها در درمان عفونتهای انتروککی محدود شـده اسـت و نقش داروهایی مثل سینرسید و لینه زولیـد و آمینـو گلیکوزیـدهای جدید که خوشبختانه در مطالعات مختلف هنوز مقاومت چندانی به آنها گزارش نشده است ء بسیار مطرح است.(۱۷و۱۸).

فهرست مراجع:

1 – Simonsen G.S., Smabrekke L., Monnet D.L., Sorensen T.L., Moller J.K. ,et al .Prevalence of resistance to ampicillinn, gentamicin,and vancomycin in enterococcus faecalis and enteococcus faecium isolates from clinical specimens and use of antimicrobials in five nordic ospitales. *J.Antimicro.Chemother.*2003. 51: 323-331.

2- Tankovic J., Mahjoubi F., Courvalin P., Duval J., Leclerco R. Development of fluoroquinolone resistance in Enterococcus faecalis and role of mutations in the DNA gyrase gyrA gene.

Archive of SID

www.SID.ir

*Antimicrob.Agents Chemother.*1996. 40(11):2558-61.
3- Aslangul E., Massias L., Meulemans A., Chau F., Andremont A., Courvalin P., Fantin B., Ruimy R. Acuired gentamicin resistance by permeability impairment in Enterococcus faecalis. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2006.50(!!): 3615-21.
4- Lefort A., Arthur M., Garry L., Carbon C., CourvaliinP., Fantin B.Bactericidal activity of tgentamicin against Enterococcus faecalis in vitro and in vivo. *Antimicrob.Agents Chemother.2000.* 44(8):2077-80
5-Vakulenko S.B., Donabedin S.M., Voskersenskiy A.M., Zervos M.J., Lerner S.A., Chow J.W. Multuplex PCR for detection of aminoglycoside resistance genes in enterococcus. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2003.47(4):1423-26
6- Daikos G., Bamias G.,Kattamis C., Zervos M.J., Chow J.W., Christakis G., et al. Structure , location and transfer frequencies of genetic elements conferring high-level gentamicin resistance in Enterococcus faecalis isoletes in Greece . *Antimicrob.Agents Chemother.*2003.47(12):3950-53.
7-Unite des Agents Antibacteriens centre National de reference des Antibiotiques –Institute pasteur –Antibiotic resistance techniques- 5th edition- 2006-102.
8- Tenover F.C., Tokars J., Swenson J., Paul S., Spitalny K., Jarvis W. Ability clinical laboratories to detect antimicrobial agent-resistant Enterococci. *J.Clin.Microbiol.*1993. 31(7): 1695-99
9-Titze-de-Almeiad R., RolloFilho M., Silveria C.A.N., Rodrigues I.P., Eudesfilho J., etal. Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of Enterococci recovered from Brazillian intensive care units. *BJID* .2004.8(3): 197-205
10- Azevedo P>A., Dias C.A.G., Teixeira L.M. Genetic diversity and antimicrobial resistance of Enterococcal isolates from southern region of Brazil. *Rev.Inst. Med.Trop. S. Paulo.*2006.48(1):11-16.
11 - Donabedian S.M., Thal L.A., Hershberger E., Perri M.B., Chow J.W., etal. Molecular characterization of gentamicin –resistant Enterococci in the United states:evidence of spread from animals to human through food. *J.Clin.Microbiol.*2003.41(3):1109-13.
12- Zarrilli R., Tripodi M.F., Dipopolo A., Fortunato R., bagattini M., Crisipino M., Florio A., Triassi M., Utili R. Molecular epidemiology of high- level aminoglycoside –resistant Enterococci isolated from patients in a university hospital in southern Italy.*J.Antimicro.Chemothe*r.2005.56(5):827-3
13-Schouten M.A., Voss A., Hoogkamp-korstanje J.A.A . Antimicrobial susceptibility patterns of Enterococci causing infections in Europe. *Antimicrob.Agents Chemother.*1999. 43(10): 2542-46.
14– Schaber D.R., Dillon W.I., Terpenning M.S., Robinson K.A., Bradley S.F., Kauffman C.A. Increasing resistance of Enterrococci to ciprofloxacin. *Antimicrob.Agents Chemother.*1992. 36(11):2533-35.
15- Busani L. , Del Grosso M., Paladini C., Graziani C., Pantosti A., Biavasco F., Capriolo A. Antimicrobial susceptibility of vancomycin – susceptible and –resistant enterococci isolated in Italy from raw meat product, farm animals and human infections . *Inter.J. food.Microbiol* .2004.
16- Kapaparaskevas J., Vatopoulos A., Tassios PT., Avlami A.,Legakis N.J., Kalapothaki V. Diversity among High- level aminoglycoside-resistant Enterococci .*J.Antimicro.Chemother.* 2000.45(3):.277-83
17- Eliopoulos G.M.Aminiglycoside resistance in Enterococci. *Clin.Infec.Dis.*2000.31.586-9.
18- Schouten M.A., Voss A., Hoogkamp-korstanje J.A.A. Antimicrobial susceptiility patterns of Enterococci causing infections in Europe. *Antimicrob.Agents Chemother.*1999. 43(10): 2542-4

Archive of SID

www.SID.ir