

بررسی مقاومت چند دارویی در سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از نمونه‌های بالینی در بیمارستان شهید بهشتی و زایشگاه شبیه‌خوانی کاشان در سال ۱۳۸۷

احمد قاسمی^۱، رضوان منیری^{۱*}، سید غلامعباس موسوی^۲

۱) گروه میکروب شناسی و ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۲) گروه آمار، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

نویسنده رابط: رضوان منیری، گروه میکروب شناسی و ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

تلفن: ۰۳۶۱-۵۵۵۰۰۲۱ moniri@kaums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۸۸/۶/۳۰ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۱۲/۵

چکیده:

زمینه و اهداف: در طی دهه اخیر، *انتروکوکوس* مهم‌ترین پاتوژن بیمارستانی بوده، و دومین عامل عفونت‌های ادراری می‌باشد. این افزایش شیوع همراه با وقوع سویه‌های مقاوم به چند دارو بوده است. هدف از این مطالعه تعیین مقاومت چند دارویی در *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از نمونه‌های بالینی در بیمارستان شهید بهشتی و زایشگاه شبیه‌خوانی کاشان بود. روش بررسی: این مطالعه به صورت توصیفی بر روی ۱۰۶ سویه *انتروکوکوس فکالیس* از نمونه‌های بالینی بیمارستان‌های کاشان در سال ۱۳۸۷ انجام پذیرفت. تست حساسیت آنتی بیوتیکی با روش دیسک دیفیوژن (محصول شرکت بکتون دیکینسون) و طبق دستورالعمل (Clinical and laboratory standards institute) CLSI انجام شد. حداقل غلظت مهارتی به ونکومايسين با روش E test (AB Biodisk, Solna) تعیین گردید.

یافته‌ها: مقاومت *انتروکوکوس فکالیس* به اریترومايسين در ۵۶٪ (۵۲/۸٪)، سیپروفلوکساسین ۴۳٪ (۴۰/۶٪)، جنتامایسین ۴۱٪ (۳۸/۷٪)، لوفلوکساسین ۳۶٪ (۳۴٪)، پنی سیلین ۳۱٪ (۲۹/۲٪)، نیتروفورانتوئین ۲۰٪ (۱۸/۸٪)، آمپی سیلین ۱۲٪ (۱۱/۳٪)، ایمی پنم ۱۱٪ (۱۰/۴٪) و به ونکومايسين در ۶٪ (۴/۷٪) مشاهده گردید. همه‌ی سویه‌ها به لاینزولید حساس بودند. فنوتیپ مقاوم به چند دارو (مقاومت به سه یا بیش از سه کلاس آنتی بیوتیکی) در ۴۰٪ (۳۷/۷ درصد) مشاهده شد.

نتیجه گیری: ظهور مقاومت به چند آنتی بیوتیک و میزان مقاومت بالا به ونکومايسين در سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* شایان توجه است. زیرا انتخاب درمان مناسب جهت عفونت‌های ایجاد شده توسط *انتروکوکوس فکالیس* می‌یابد.

کلید واژه‌ها: *انتروکوکوس فکالیس*، *انتروکوکوس* مقاوم به ونکومايسين، مقاومت به چند دارو

مقدمه:

انتروکوکوس به عنوان عامل مهم عفونت‌های بیمارستانی و عفونت‌های اکتسابی از جامعه مطرح می‌باشد (۶-۱). درمان انتخابی برای عفونت‌هایی نظیر باکتری می و اندوکاردیت ناشی از انتروکوک، ترکیبی از پنی سیلین یا یک گلیکوپپتید به همراه آمینوگلیکوزیدها می‌باشد (۷ و ۸). کارآیی چنین ترکیب دارویی با ظهور سویه‌های مقاوم به چند آنتی بیوتیک، شامل مقاومت بالا به آمینوگلیکوزیدها، مقاومت به پنی سیلین یا گلیکوپپتیدها مختل می‌گردد (۹). انتروکوکوس‌های مقاوم به چند دارو (MDR) که حساسیت خود را نسبت به ونکومايسين از دست داده از اروپا (۱۰) و امریکا (۱۱) گزارش شده است. وجود مقاومت ذاتی این باکتری نسبت به بسیاری از آنتی بیوتیک‌ها و توانایی کسب مقاومت نسبت به تمامی آنتی بیوتیک‌ها یکی از دلایل بقای این ارگانیسم در محیط بیمارستان است. مقاومت دارویی، کلونیزه شدن باکتری را در دستگاه گوارش تسهیل می‌نماید. انتروکوکوس‌ها مسئول ۱۰٪ عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد. عفونت‌های انتروکوکوی به‌ویژه در بیماران دارای کاتتر درون عروقی و ادراری و بیمارانی که به مدت طولانی در بیمارستان بستری می‌باشند و یا آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف را دریافت کرده‌اند، شایع است. با توجه به عدم دسترسی به اطلاعات دقیق در منطقه و به منظور تعیین شیوع انتروکوکوس‌های مقاوم و تعیین مقاومت چند دارویی این مطالعه در بیمارستان شهید بهشتی و زایشگاه شبیه خوانی کاشان در سال ۱۳۸۷ انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها:

این مطالعه توصیفی بر روی سویه‌های انتروکوکوس فکالیس (*Enterococcus faecalis*) جمع آوری شده از نمونه‌های ادرار، کشت خون، لوله تراشه، زخم و مایع پلور بیماران بستری در بیمارستان‌های شهید بهشتی و زایشگاه شبیه خوانی کاشان در سال ۱۳۸۷ انجام پذیرفت. کلیه نمونه‌ها در محیط انتقالی تریپتوکیس سوی براث (TSB) به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی کاشان منتقل شدند. سپس در محیط آگار خون دار کشت داده شد و در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. باکتری‌های رشد یافته با رنگ آمیزی گرم و تست کاتالاز مورد بررسی قرار گرفتند. کوکوس‌های گرم مثبت کاتالاز منفی با تست‌های بیوشیمیایی استاندارد نظیر تست هیدرولیز ال-پیرولیدونیل-بتا-نفتیل‌آمید (PYR)، رشد

در محیط تریپتوکیس سوی براث (TSB) حاوی ۶/۵٪ نمک، تست تحمل تلوریت ۰/۰۴ درصد و هیدرولیز بایل اسکولین تعیین هویت گردیدند. در مجموع ۱۰۶ سویه *E. faecalis* شناسایی شد. با استفاده از دیسک‌های ونکومايسين (30µg)، پنی سیلین (10unit)، آمپی سیلین (10µg)، یپروفلوکساسین (5µg)، لووفلوکساسین (5µg)، اریترومايسين (15µg)، جنتامایسین (10µg)، ایمپینم (10µg)، تتراسایکلین (۳۰µg)، نیتروفوراتوئین (50µg) و لاین زولید (30µg) تهیه شده از شرکت بکتون دیکینسون با روش دیسک دیفیوژن و طبق دستورالعمل CLSI فنوتیپ مقاومت تعیین گردید (۱۲). کدورت ۰/۵ مک فارلند برای تلقیح به محیط مولر هیتون استفاده شد. مقاومت به ونکومايسين با روش E-test تهیه شده از شرکت AB Biodisk, Solna کشور سوئد تعیین گردید. ظروف پتری بعد از ۲۴ ساعت نگهداری در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرائت شد. بر اساس دستورالعمل CLSI حداقل غلظت مهاری بیشتر از ۳۲ میکروگرم در میلی لیتر مقاوم، حداقل غلظت مهاری ۱۲-۶ میکروگرم در میلی لیتر حدواسط و حداقل غلظت مهاری کمتر از ۴ میکروگرم در میلی لیتر حساس تفسیر گردید. سویه *E. faecalis* ATCC 29212 به عنوان کنترل طبق توصیه CLSI به منظور استاندارد سازی تست حساسیت آنتی بیوتیکی استفاده گردید. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS انجام و تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون آماری مجذور کس و آزمون دقیق فیشر صورت گرفت. میزان قابل اهمیت استاندارد، $p < 05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

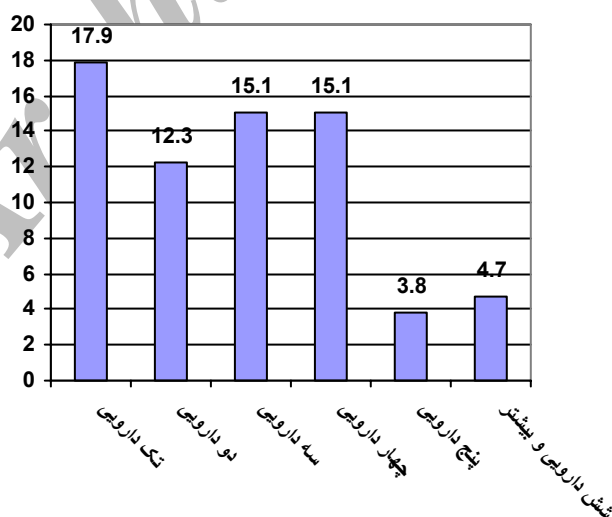
از ۱۰۶ سویه *انتروکوکوس فکالیس*، ۵۰/۹٪ از مردان و ۵۲ سویه (۴۹/۱٪) از زنان جدا شده بود. میانگین سنی بیماران $27 \pm 37/4$ و از حداقل ۱ ماه تا حداکثر ۹۱ سال متغیر بود. میانگین روزهای بستری در بیمارستان از $4/6 \pm 3/7$ و از حداقل ۱ تا ۲۴ روز متغیر بود. ۱۸ نفر (۱۷٪) دارای بیماری زمینه‌ای بودند. ۱۹ نفر از بیماران (۱۷/۹٪) آنتی بیوتیک مصرف نموده بودند. از ۱۰۶ سویه انتروکوک فکالیس، ۹۲ سویه (۸۶/۹٪) از ادرار، ۶ سویه (۵/۶٪) از کشت خون، ۴ سویه از زخم (۳/۸٪)، ۳ سویه (۲/۸٪) از لوله تراشه، ۱ سویه (۰/۹٪) از مایع پلور جدا شده بود. ۴۵ سویه (۴۲/۵٪) از بخش اورژانس، ۱۵ سویه (۱۴/۲٪) از بخش اطفال، ۱۳ سویه (۱۲/۳٪)

در جدول ۱ ارائه شده است. نمودار ۱ درصد فراوانی مقاومت چند دارویی را به تفکیک کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی نشان می‌دهد. بین جنس، سن، بیماری زمینه‌ای، بستری شدن بیش از یک هفته در بیمارستان و بروز مقاومت چند دارویی ارتباط معنی‌دار مشاهده نشد. مصرف قبلی آنتی‌بیوتیک با مقاومت چند دارویی ارتباط معنی‌دار نشان داد ($P < 0/045$) (جدول ۲).

از بخش عفونی، ۱۱ سویه (۱۰/۴٪) از بخش جراحی، ۹ سویه (۸/۴٪) از CCU، ۷ سویه (۶/۶٪) از بخش نوزادان و ۶ سویه (۵/۷٪) از بخش داخلی جدا شده بود. میانگین حداقل غلظت مهاری به ونکومايسين به روش E test $1/1 \pm 2/12$ و از حداقل صفر تا حداکثر ۶ میکروگرم در میلی‌لیتر متغیر، میانه و نمای آن ۲ بود. الگوی حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها

جدول ۱: توزیع فراوانی درصد حساسیت و مقاومت سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* به تفکیک نوع آنتی‌بیوتیک

آنتی‌بیوتیک	مقاوم	حدواسط	حساس
اریترومایسین	۵۲/۸	۱۷/۹	۲۹/۳
سیپروفلوکساسین	۴۰/۶	۱۸/۸	۴۰/۶
لوفلوکساسین	۳۴	۲/۸	۶۳/۲
جنتامایسین	۳۸/۷	۷/۵	۵۳/۸
پنی‌سیلین	۲۹/۲	۰	۷۰/۸
آمپی‌سیلین	۱۱/۳	۰	۸۸/۷
نیتروفورانئوئین	۱۸/۸	۳/۸	۷۷/۴
ایمی‌پنم	۱۰/۴	۰/۹	۸۸/۷
ونکومايسين	۴/۷	۵/۷	۸۹/۶
لاین‌زولید	۰	۲/۸	۹۷/۲



نمودار ۱: درصد فراوانی مقاومت چند دارویی به تفکیک کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی

جدول ۲: توزیع فراوانی مقاومت چند دارویی سویه‌های انتروکوکوس فکالیس به تفکیک متغیرهای مورد بررسی

P value	MDR		خصوصیات بیماران
	ندارد تعداد (درصد)	دارد تعداد (درصد)	
۰/۵۱	۳۲ (۵۹/۳)	۲۲ (۴۰/۷)	جنس
	۳۴ (۶۵/۴)	۱۸ (۳۴/۶)	مرد زن
۰/۲	۲۸ (۵۶)	۲۲ (۴۴)	سن
	۳۸ (۶۷/۹)	۱۸ (۳۲/۱)	کمتر از ۴۰ سال مساوی یا بیش از ۴۰
۰/۵۱	۱۰ (۵۵/۵)	۸ (۴۴/۵)	بیماری زمینه‌ای
	۵۶ (۶۳/۶)	۳۲ (۳۶/۴)	دارد ندارد
۰/۰۴۵	۸ (۴۲/۱)	۱۱ (۵۷/۹)	مصرف قبلی آنتی‌بیوتیک
	۵۸ (۶۶/۷)	۲۹ (۳۳/۳)	دارد ندارد
۰/۱۹	۵۲ (۶۵/۸)	۲۷ (۳۴/۲)	مدت زمان بستری در بیمارستان
	۱۴ (۵۱/۹)	۱۳ (۴۸/۱)	کمتر از یک هفته مساوی یا بیش از یک هفته
۰/۲۴	۴ (۴۴/۵)	۵ (۵۵/۵)	استفاده از کاتتر ادراری
	۶۲ (۶۴)	۳۵ (۳۶)	دارد ندارد

بحث:

یافته‌های این مطالعه نشان داد که بیشترین مقاومت سویه‌های انتروکوکوس فکالیس به اریترومايسين، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، لوفلوکساسین، پنی‌سیلین، نیتروفورانتوئین، آمپی‌سیلین، ایمپنم، و ونکومايسين است. همه‌ی سویه‌ها به لاین‌زولید حساس هستند. ۳۷/۷ درصد از سویه به سه و یا بیش از سه کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاوم هستند که MDR محسوب می‌شوند. مقاومت چند دارویی فقط با متغیر مصرف قبلی آنتی‌بیوتیک ارتباط معنی‌دار نشان داد.

در مطالعه ما مقاومت به ونکومايسين ۴/۷ درصد بود که کمتر از مطالعه اشراقی و همکاران در تهران (۱۳) و بیشتر از مطالعه

رمضانی و فیض‌آبادی و همکاران بوده است. (۱۵،۱۴). سیفی و همکاران نشان دادند که از ۶۳۸ سویه‌ی انتروکوکوس ۲۹ درصد از سویه‌های *E. faecalis* و ۷۲ درصد از سویه‌های *E. faecium* جدا شده از عفونت‌های ادراری در ایران مقاوم به چند دارو بودند (۱۶). مطالعه Zhanel و همکاران طی سال‌های ۲۰۰۶-۲۰۰۵ در کانادا نشان داد که انتروکوکوس‌های مقاوم به ونکومايسين ۶/۷ درصد سویه‌های انتروکوکوسی (۱۱/۲۵۵) را تشکیل داده و ۸۸/۲ درصد سویه‌های VRE دارای ژنوتیپ vanA بودند (۱۷). Kuzucu و همکاران در ترکیه نشان دادند که از ۹۰ سویه انتروکوکوس ۴۱ درصد مقاومت بالا به جنتامایسین، ۴۰ درصد مقاومت بالا به استرپتومايسين و ۵۵/۶

محسوب شدند. سیفی و همکاران نشان دادند که ۲۹ درصد از سویه‌های *E. faecalis* از ۹ مرکز پزشکی در تهران مقاوم به چند دارو بودند (۱۶). میزان MDR در مطالعه ما بالاتر است و زنگ خطر مهمی در عفونت‌های بیمارستانی ناشی از انتروکوکوس در بیمارستان ما می‌باشد.

نتیجه‌گیری:

میزان مقاومت به ونکومایسین اهمیت توجه به شیوع VRE را در بیمارستان‌های کاشان جلب می‌نماید. از آن جایی که ۳۷/۷ درصد از ایزوله‌های انتروکوکوس فکالیس جدا شده از نمونه‌های بالینی مقاوم به چند دارو هستند اهمیت شناسایی سویه‌های مقاوم به چند دارو مشخص می‌گردد. VRE عامل مهم اپیدمی عفونت‌های بیمارستانی است و می‌تواند باعث افزایش ابتلا، مرگ و میر و هزینه‌ها گردد. بنابراین استفاده از روش‌هایی که قادر به شناسایی سویه‌های مقاوم و تشخیص گسترده آن‌ها باشند در طراحی راهکارهای پیشگیری کننده و کنترل انتشار سویه‌های مقاوم مهم می‌باشند.

درصد به آمپی‌سیلین مقاومت نشان دادند. هیچ گونه مقاومت به ونکومایسین با روش دیسک دیفیوژن مشاهده نگردید (۱۸). Yeh و همکاران نشان دادند که از ۴۵۳۸ بیمار ارجاع شده به ICU، در روز پذیرش VRE را از ۸ درصد بیماران جدا نموده‌اند. ۱۰ درصد از بیمارانی که در روز پذیرش از نظر VRE منفی بودند در روزهای بعدی بستری در ICU مثبت شدند (۱۹).

Loza و همکاران در اسپانیا نشان دادند که ۱۰۰ درصد سویه‌های انتروکوکوس فکالیس به لاین زولید، ونکومایسین و آمپی‌سیلین حساس بودند و حساسیت به لوفلوکسازین در ۶۹ درصد سویه‌های انتروکوکوس فکالیس مشاهده شد (۲۰). در مطالعه ما سویه‌های انتروکوکوس همگی به لاین زولید حساس بودند که با مطالعه Loza و همکاران در اسپانیا مشابهت دارد (۲۰). ایمانی و همکاران در تهران نشان دادند که شیوع سویه انتروکوکوس مقاوم به ونکومایسین در بیمارستان‌های تهران ۱۲ درصد بوده است. این مقاومت در انتروکوکوس فکالیس ۶ درصد و در انتروکوکوس فسیوم ۲۲ درصد بوده است (۲۱). در مطالعه ما ۳۷/۷ درصد از سویه‌های انتروکوکوس فکالیس به سه و یا بیش از سه کلاس آنتی‌بیوتیکی، مقاوم بوده و MDR

فهرست مراجع:

- Vandamme P, Vercauteren E, Lammens C, Pensart N, Ieven M, Pot B, et al. Survey of enterococcal susceptibility patterns in Belgium. *J Clin Microbiol.* 1996 Oct; **34**(10):2572-6.
- Silverman J, Thal LA, Perri MB, Bostic G, Zervos MJ. Epidemiologic evaluation of antimicrobial resistance in community-acquired enterococci. *J Clin Microbiol.* 1998 Mar; **36**(3):830-2.
- van Den Braak N, van Belkum A, Kreft D, te Witt R, Verbrugh HA, Endtz HP. The prevalence and clonal expansion of high-level gentamicin-resistant enterococci isolated from blood cultures in a Dutch university hospital. *J Antimicrob Chemother.* 1999 Dec; **44** (6):795-8.
- Udo EE, Al-Sweih N, John P, Jacob LE, Mohanakrishnan S. Characterization of high-level aminoglycoside-resistant enterococci in Kuwait hospitals. *Microb Drug Resist.* 2004 Summer; **10**(2):139-45.
- Fridkin SK, Lawton R, Edwards JR, Tenover FC, McGowan JE Jr, Gaynes RP. Monitoring antimicrobial use and resistance: comparison with a national benchmark on reducing vancomycin use and vancomycin-resistant enterococci. *Emerg Infect Dis.* 2002 Jul; **8**(7):702-7.
- Goossens H, Jabes D, Rossi R, Lammens C, Privitera G, Courvalin P. European survey of vancomycin-resistant enterococci in at-risk hospital wards and in vitro susceptibility testing of ramoplanin against these isolates. *J Antimicrob Chemother* 2003; **51** Suppl 3:iii5-12.
- Landman D, Quale JM. Management of infections due to resistant enterococci: a review of therapeutic options. *J Antimicrob Chemother* 1997; **40**: 161-70.
- Graham JC, Gould FK. Role of aminoglycosides in the treatment of bacterial endocarditis. *J Antimicrob Chemother* 2002; **49**: 437-44

9. Chow JW. Aminoglycoside resistance in enterococci. *Clin Infect Dis* 2000; **31**: 586-99.
10. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med* 1988; **319**:157-61.
11. Sahm DF, Kissinger J, Gilmore MS, Murray PR, Mulder R, Solliday J, et al. In vitro susceptibility studies of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; **33**: 1588-91.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility tests, 4th ed. Approved standards. NCCLS document M7-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa, 1990.
۱۳. اشراقی س، طالبی م، پور شفیق م و سالاری م. فراوانی و خصوصیات مولکولی کوکوس‌های گرم مثبت هوازی مقاوم به ونکومايسين جدا شده از نمونه‌های بالینی در شهر تهران. *مجله میکروب شناسی پزشکی ایران*، پاییز ۱۳۸۶، سال ۱، شماره ۳ صص، ۹ تا ۱۵.
۱۴. رضانی آ، محرز م، اسدی س، نازگوئی ف، اسلامی ف. بررسی وضعیت عفونت بیمارستانی ناشی از انتروکوک در بعضی بیمارستان‌های تهران، *مجله بیماری‌های عفونی و گرمسیری ایران*، ۱۳۸۱؛ دوره ۷، شماره ۱۹ صص ۱۱ تا ۱۵.
15. Feizabadi MM, Asadi S, Aliahmadi A, Parvin M, Parastan R, Shayegh M, Etemadi G. Drug resistant patterns of enterococci recovered from patients in Tehran during 2000-2003. *Int J Antimicrob Agents*. 2004; **24**(5):521-2.
16. Saifi M, Pourshafie MR, Eshraghian MR, Soltan Dallal MM. Anti-microbial resistance of enterococci isolated from urinary tract infections in Iran. *Iran Biomed J*. 2008; **12**(3):185-90.
17. Zhanel GG, DeCorby M, Laing N, Weshnoweski B, Vashisht R, Tailor F, et al. Canadian Antimicrobial Resistance Alliance (CARA), Hoban DJ Antimicrobial-resistant pathogens in intensive care units in Canada: results of the Canadian National Intensive Care Unit (CAN-ICU) study, 2005-2006. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008; **52**(4):1430-7.
18. Kuzucu C, Cizmeci Z, Durmaz R, Durmaz B, Ozerol IH The prevalence of fecal colonization of enterococci, the resistance of the isolates to ampicillin, vancomycin, and high-level aminoglycosides, and the clonal relationship among isolates. *Microb Drug Resist*. 2005; **11**(2):159-64.
19. Yeh KM, Siu LK, Chang JC, Chang FY. Vancomycin-resistant enterococcus (VRE) carriage and infection in intensive care units. *Microb Drug Resist*. 2004; **10**(2):177-83.
20. Loza E, Morosini MI, Pascual A, Tubau F, Alcalá J, Liñares J, et al. SENTRY Surveillance Program, Spain (2002-2006). SENTRY Surveillance Program, Spain (2002-2006). Comparative in vitro activity of daptomycin against gram-positive microorganisms: SENTRY surveillance program, Spain (2002-2006) *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008; **26**(8):489-94.
21. Emani M, Aligholi M, Aminshahi M. Characterization of glycopeptides, aminoglycosides and macrolide resistance among *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates from hospitals in Tehran. *Pol J Microbiol*. 2008; **57**(2):173-8.