اپیدمیولوژی مولکولی سویه‌های بالینی انتروکوک فسیوم در بیمارستانهای تهران

دکتر امیتیس رمضانی[1*] ، دکتر مینو محرز[2] . دکتر مهدی فیض آبادی[3] ، دکتراحمد اصغرزاده[4] ، دکتر علی اسلامی فر[5] راضیه پرستان[6] ، آتوسا علی احمدی[6]، دکتر علی اکبر ولایتی[7]

۱. متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری، انستیتو پاستور ایران
۲. متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری ، استاد دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳. PhD میکروب شناسی ، دانشیار دانشگاه الزهرا
۴. PhD میکروب شناسی ، مرکز تحقیقات آب وخاک
۵.پاتولوژیست، استادیار انستیتوپاستور
۶. دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه الزهرا
۷. متخصص بیماریهای عفونی کودکان، استاد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ، مرکز تحقیقات سل و بیماریهای ریوی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
*آدرس برای مکاتبه: تهران ، خیابان پاستور ، انستیتو پاستور تلفن ۶۶۹۶۸۸۵۲ ، iiccom@iiccom.com

تاریخ دریافت مقاله: مرداد هشتاد و چهار تاریخ پذیرش مقاله: آذر هشتاد و چهار

چکیده

سابقه و هدف: *الگوی ژنتیکی انتروکوک‌های مناطق مختلف متفاوت بوده و نه تنها در کشور ما و مناطق مختلف بلکه در یک بیمارستان نیز ممکن است خوشه‌های متعدد انتروکوک وجود داشته و پلی مورفیسم شدیدی به چشم بخورد که ویژه آن منطقه یا بیمارستان باشد. این تحقیق با هدف تعیین ارتباطات ژنتیکی سویه‌های فسیوم بالینی را در بیمارستانهای تهران انجام گرفت.*

مواد و روش‌ها: *۲۹۶ سویه انتروکوک از بیمارستان‌های تهران جمع‌آوری شد و ۵۶ نمونه انتروکوک فسیوم جدا گردید. بعد از تایید جنس و گونه و انجام تست‌های آنتی‌بیوگرام با تست دیسک دیفیوژن و(Microbroth dilution test) MIC، استخراج انزیم برای (multilocus enzyme electrophoresis) MEE آغاز شد. سپس REP-PCR انجام گرفت. و بیوتایپ سویه‌ها تعیین گردید.*

یافته‌ها: *در ۶۰ سویه ۷ بیوتایپ شناسایی شد. بیووار ۱ با ۲۰ ایزوله شایع‌ترین فنوتایپ بین ایزوله‌ها بود و بعد از آن، بیووار۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ به ترتیب شامل ۱۰، ۱۱، ۷، ۶، ۳ و ۳ ایزوله بود. در ۷ ایزوله که به وانکومایسین و تیکو پلانین (MIC>1289/mL) مقاوم بودند ژن VanA مشخص گردید. این ۷ ایزوله هم به بیووار ۱، ۳، ۴ و ۵ تعلق داشتند. این ایزوله‌ها در 5 ژنوتیپ گروه بندی شدند (توسط PCR fingerprinting). ۵۶ سویه با تکنیک PCR و MEE آنالیز شدند. ۶۰ ایزوله فسیوم ۴۲ الگوی الکتروفورتیک ایجاد کردند.*

نتیجه‌گیری: *در این مطالعه انتظار می‌رفت که سویه‌های حاصله از بیماران در یک بخش با یکدیگر مرتبط باشند. اما به طور معکوس به استثناء چند مورد ایزوله‌های انتروکوک فسیوم این بیماران به بیووارهای مختلف و ETS (الگوهای الکتروفورز) متنوع تعلق داشتند که توسط PCR از یکدیگر افتراق داده شدند اطلاعات حاصله از MEE نیز نشان داد که سویه‌ها, کلونال نبوده و حتی در بخش‌های یک بیمارستان نیز سویه‌های مشابه موجود نمی‌باشد. که نشان دهنده این مطلب است که نوترکیبی (recombination) ممکن است به طور مکرر در جمعیت سویه‌های انتروکوک رخ دهد.*

واژگان کلیدی: ***انتروکوک، فسیوم، اپیدمیولوژی مولکولی***

مقدمه

انتروکوکها شامل انتروکوک فسیوم قادر هستند شرایط بسیار سخت محیطی را تحمل نمایند(۱). سهولت در تبادل ژن‌های مقاوم ویرولنت بین سویه‌های انتروکوک و توانایی بالای ارگانیسم در انتقال بین بیماران و محیط سبب گردیده که به عنوان دومین عامل عفونت بیمارستانی شناخته شود. به طوری که انتروکوک از ۱۲٪ موارد عفونت‌های بیمارستانی از اعضای مختلف شامل سیستم ادراری و باکتریمی‌ها در بیمارستان‌های ایالت متحده جدا شده است (۲).

سویه‌های فسیوم به ویژه از نظر مقاومت به ونکومایسین حایز اهمیت هستند به طوری که در آمریکا تا ۵۰٪ سویه‌های جدا شده

Archive of SID

www.SID.ir

از این گونه نسبت به این دارو مقاوم گزارش شده‌اند (۳) و همچنین می‌توانند ژنهای مقاومت را کسب و آنها را به سهولت به سایر گروههای باکتریایی منتقل کنند (۴-۳).

در برزیل انتشار بین بیمارستانی انتروکوک فسیوم در شهر Sao Paulo گزارش شد ولی در سال ۲۰۰۴ انتشار فنوتیپ VanA انتروکوک فکالیس بین دو بیمارستان در شهرهای Sao Paulo توصیف گردید. ابتدا طغیانی در یک بیمارستان رخ داد و سه سال بعد همان سویه در دو بیمار با فاصله ۱۰ کیلومتری ظاهر شد. ژنو تایپینگ DNA با استفاده ازپالس فیلد ژل الکتروفورزیس یا PFGE نشان داد همه ایزوله‌ها از یک کلون بودند که تایید کننده انتشار بیمارستانی عفونت می‌باشد (۵).

مطالعه انجام شده توسط peralda در ایالت متحده بر روی ۱۹ سویه فسیوم با ژنوتایپ Van B با روش PFGE الگوهای مشابه مرتبط به هم را نشان داد. این مطالعه ثابت کرد که بروز سویه‌های مقاوم به ونکومایسن در شهر اوهایوبه انتشار کلونال یک سویه واحد انتروکوک فسیوم VanB مرتبط می‌باشد(۶).

Stosor در سال ۲۰۰۰ اپیدمی VRE را در مراکز درمانی ایلینویز به صورت پلی کلونال نشان داد(۷). الگوی ژنتیکی انتروکوک‌های مناطق مختلف متفاوت بوده و نه تنها در کشور ما و مناطق مختلف بلکه در یک بیمارستان نیز ممکن است خوشه‌های متعدد انتروکوک وجود داشته و پلی مورفیسم شدیدی به چشم بخورد که ویژه آن منطقه یا بیمارستان باشد. طبعاً آگاهی از اپیدمیولوژی این میکروب می‌تواند شناخت خوبی از وضعیت کنونی عفونت‌های بیمارستانی و همچنین آینده آن به دست دهد. خصوصاً سوشهای فوق پتاسیل انتقال مقاومت به دیگر باکتریهای گرم مثبت را دارند که می‌تواند خطری جدی در مراکز درمانی فراهم سازد (۸). با توجه به نکات فوق این بررسی با هدف تعیین اپیدمیولوژی مولکولی سویه‌های بالینی انتروکوک فسیوم در بیماران ایرانی انجام شد.

مواد و روش‌ها

۲۹۶ نمونه انتروکوک از بیمارستان‌های مختلف شامل حضرت رسول(ص), امام خمینی (ره), شریعتی, لبافی‌نژاد جمع‌آوری و به بخش میکروب‌شناسی دانشگاه الزهرا منتقل گردید. پس از تهیه کشت خالص با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم آزمایشات کاتالاز, بایل اسکولین, رشد در شرایط مختلف درمانی ۱۰ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد, ۶۵٪ Nacl, (PH:9/6), تحمل متیلن بلو ۱٪ سدیم آزاید (۰/۰۵٪), تحمل دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت نیم ساعت, و اپتوچین, سوشها در حد جنس شناسایی شدند.

سپس سوشهای انتروکوک با استفاده از آزمایشات تولید اسید از مانیتول, سوربیتول, سوربوز, ارابینوز, رافینوز, ریبوز, ساکارز, گلیسرول, برروی آرژنین دی هیدرولاز و استفاده از پیروات در حد گونه شناسایی گردیدند. ۵۶ نمونه انتروکوک فسیوم جدا شد سپس میزان مقاومت کلیه سوشها نسبت به پنی‌سیلین G ،جنتامایسین HLGR امپی سیلین ونکومایسین (Fluka), ایمی پنم کلرامفنیکل و نیتروفورانتوئین.... با روش دیسک آنتی‌بیوگرام (BBL Maryland USA) و MIC (microbroth dilution) تعیین شد. آزمایش بتالاکتاماز به روش نیتروسفین BBL Maryland (USA) برای همه سوش‌ها انجام و نتایج آن توسط دیسک (شرکت Biomerieux) کنترل گردید.

سپس آماده سازی آنزیم با تکنیک MEE آغاز شد. از ایزوله‌های کشت شده در BHI(Brain heart infusion Merck Germany) تعداد ی سلول درو شد و در ۴ درجه سانتی‌گراد سونیکه گردید. بعد سلولهای متلاشی شده میکروفیوژ شدند (۲۰ دقیقه در ۴ درجه 13000g) و سوپرناتانت آن که حاوی آنزیم بود برروی ژل نشاسته الکتروفورز گردید و حرکت ۱۰ آنزیم اختصاصی رنگ آمیزی شده تعیین شد. این آنزیم‌ها شامل adenylate kinase (ADK), glucose 6-phosphate dehydrogenase (GPD), leucile- glycine peptidase (LGG), nucleoside phosphrylase (NP), phosphoglucose isomerase (PGI), phosphoglucomutase (PGM), glutamate dehydrogenase (GDH), hexokinase and 1 and 2(HEX1, (HEX2) and 2, 6-phosphogluconate dehydrogenase (PGD),. بودند. سپس اطلاعات حاصل از MEE آنالیز گردید. تنوع ژنتیکی (h) هر لوکوس آنزیمی از فرمول [h=(1-£Pi2)[h/(n-1)] محاسبه گردید که Pi فرکانس آلل‌ها و n تعداد تایپ‌های الکتروفورز (ETS) در نمونه‌ها می‌باشد. اطلاعات حاصله از MEE با استفاده از یک تست آماری طراحی شده ارتباط بین ژن‌ها در لوکوس‌های مختلف را

Archive of SID

www.SID.ir

تعیین کرد. ایندکس ارتباط (IA) که نشان دهنده ارتباط بین لوکوس‌ها است محاسبه گردید. برای انجام PCR, DNA ایزوله ها استخراج شد. از پرایمر های ddL فسیوم -5) GCAAGGCTTCTTAGAG-3) و ddL فسیوم -5) CATCGTGTAAGCTAACTC-3) برای amplification استفاده شد (پرایمر توبانگین). ژن VanA نیز توسط پرایمرهای van A1-3(5- GGGAAAACGACACAATTGC-3) و vanA2-3(5-GTACAATGCGGGCCGTTA-3) برای تعیین فنوتایپ ایزوله مقاوم به وانکومایسین در نظر گرفته شد سپس امپلیفیکاسیون DNA توسط ترموسیکلر ژینیوس (techne uk) انجام گرفت:

۳ دقیقه ۹۴ درجه Pre- denaturation

۳۵ سیکل ۳۰ ثانیه‌ای در ۹۴ درجه

۱دقیقه در ۵۴ درجه

۱دقیقه در ۷۲ درجه

سیکل نهایی ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه

برای آنالیز رنگ‌ها، Rep-PCR ترکیب پرایمر های AP4(5-TCACGCTGCA-3) و -5) ERIC ATGTAAGCTCCTGGGGGATTCAC-3) استفاده گردید. PCR در یک حجم نهایی ۵۰ ۱ که شامل بافر PCR ۱، ۴mM Mgcl2, ۱۰٪DMSO, 0/2mg/ml BSA, ۵۰۰ مول dNTPs، ۴ مول از پرایمر AP4 و ERIC, ۲/۵ واحد از تک پلی مراز (Ferments UAB Lithuania) و ۲ ۱ از DNA خالص انجام گرفت. این مخلوط در ۹۴ درجه برای ۳ دقیقه، ۴۰ سیکل ۹۴ درجه برای ۳۰ ثانیه, ۳۵ درجه برای ۱ دقیقه, ۷۲ درجه برای ۲ دقیقه و در نهایت ۷۲ درجه برای ۵ دقیقه قرار گرفت. Box-PCR نیز در یک حجم نهایی ۵۰: ۱ صورت گرفت که شامل بافر PCR ۱, ۲/۵ میلی مول mgcl2, ۱۰٪ DMSO, BSA 0/2 Mg/ml, ۵۰۰ مول dNTP, ۰/۶ مول پرایمر BoxA2R (5-ACGTGGTTTGAAGAGATTTTCG-3)، ۲/۵ واحد تک پلی مراز (Fermentas UAB Lithuania) می‌باشد این مخلوط در حرارت ۹۴ درجه ۷ دقیقه, ۳۵ سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد, ۳۰ ثانیه, ۴۰ درجه ۱ دقیقه، ۶۵ درجه ۸ دقیقه و در نهایت ۶۵ درجه سانتی‌گراد, ۱۶ دقیقه قرار گرفت. سپس آنالیز توسط الکتروفورز روی ژل آگار (ROCHE DIAGNOSTICS) انجام شد جهت کنترل نیز از سویه‌های رفرانس فسیوم (tx0016) و فکالیس (ATCC29212) به عنوان کنترل مثبت و منفی به ترتیب استفاده شد. سپس الگوهای DNA ایجاد شده توسط Box PCR آنالیز گردید.این اطلاعات برای محاسبه اختلاف ماتریکس (distance matrix) استفاده شد. همه باندها به یک ماتریکس 1S و 0S تبدیل شدند به عبارتی پروفایل DNA بر اساس وجود یا عدم وجود باند بین 1S و 0S اسکور بندی شد

یافته‌ها

در بررسی که برروی ۵۶ سویه بالینی انتروکوک فسیوم صورت گرفت مشخصات فنوتیپی و ارتباطات ژنتیکی آنها ارزیابی شد در این سویه‌ها ۷ بیوتایپ شناسایی شد. ۴ سویه دانمارکی وUSA نیز بررسی شدند (جدول ۱). بیووار ۱ با ۲۰ ایزوله شایع‌ترین فنوتایپ بود و بعد از آن، بیووار ۲،۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ به ترتیب ۱۰، ۱۱، ۷، ۶، ۳ و ۳ ایزوله بودند. بیش از ۵۰٪ ایزوله‌های لبافی‌نژاد به بیووار ۱ و ۳ تعلق داشت. مقاومت به بیش از ۳ آنتی‌بیوتیک از مشخصات مهم بیوتایپ‌ها بود. ۴ ایزوله دانمارکی و USA نیز بررسی شدند که ۲ ایزوله دانمارک و یک ایزوله تگزاس به بیووار

Archive of SID

www.SID.ir

۱ تعلق داشتند. ژن VanA در ۷ ایزوله که به وانکومایسین و تیکو پلانین (MIC>1289/mL) مقاوم بودند مشخص گردید. این ۷ ایزوله هم به بیووار ۱, ۳, ۴ و ۵ تعلق داشتند.انها الگوهای متفاوت مقاومت را نشان دادند. این ایزوله‌ها در 5 ژنوتیپ گروه بندی شدند (توسط PCR fingerprinting).

ایزوله‌ها در بیووار ۵ و ۶ از نظر MEE متفاوت بودند. بیووار ۷ شامل ۲ ایزوله USA و ایرانی بود که از لحاظ تایپ‌های الکتروفورز ETS و PCR الگوهای مختلفی داشتند.

این ۵۶ سویه با تکنیک PCR و MEE آنالیز شدند.(شکل ۱ و ۲).۶۰ ایزوله فسیوم (شامل ۵۶ ایرانی و ۴ سویه دانمارکی وUSA)

تعلق داشتند. برای مثال ۳ ایزوله بیووار ۱الگوی مقاومت مشابه نشان دادند در حالی که به ۲ الگوی الکتروفورز متفاوت تعلق داشتند و اختلاف ژ نتیکی ۰/۶ را نشان می‌دادند. به طور مشابه ۸ ایزوله بیووار ۲,شش الگوی مقاومت مختلف را نشان دادند ایزوله‌های این بیووار به ۷ الگوی الکتروفورز متمایز شدند(اختلاف ژنتیکی ۰/۲) ایزوله‌های مقاوم به ونکوبا بیوتایپ ۴(n=3) در MEE مشابه بودند. دیگر ایزوله‌های این بیووار با ETs مختلف پراکنده بودند. ایزوله‌های بیووار ۶ متعلق به ETs مختلف از یکدیگر با اختلاف ژنتیکی ۰/۵ متمایز گشتند. در حالی که ایزوله‌های دانمارکی از سویه های ایرانی توسط MEE متمایز شدند ۲ ایزوله USA با سویه‌های ایرانی در یک گروه قرار گرفتند. ایندکس ارتباط (IA) ۰/۰۳۵ محاسبه گردید که تفاوت چندانی با صفر ندارد.

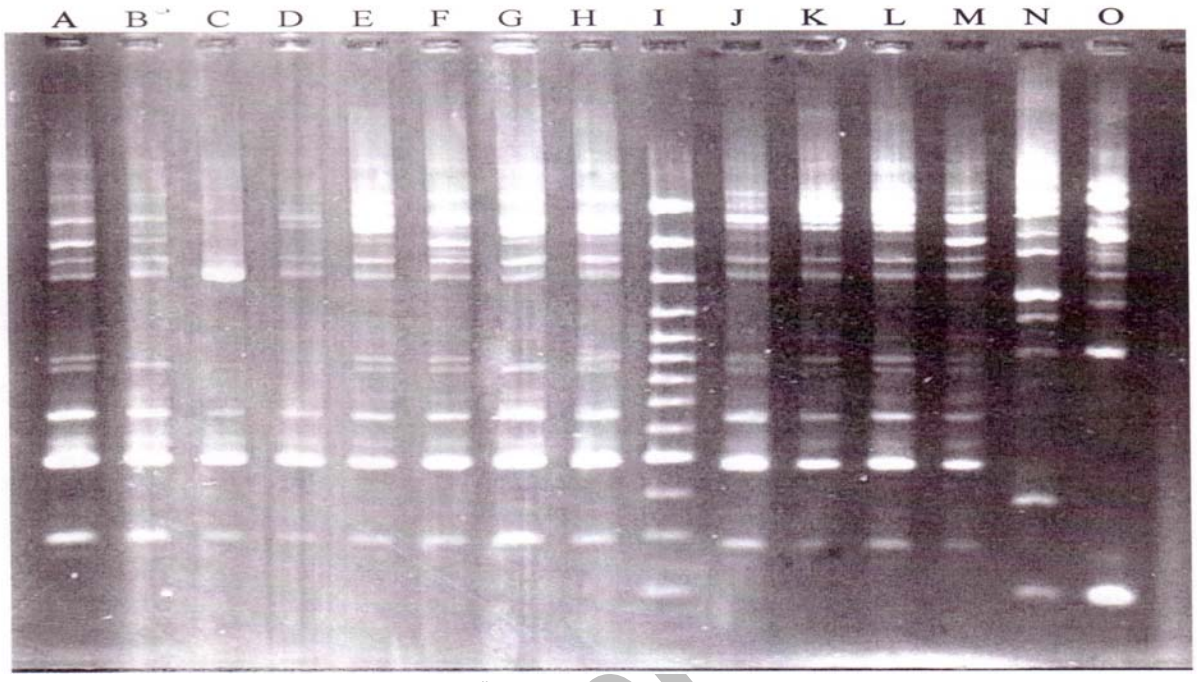
جدول ۱ - فنوتایپ ها (بیوتایپ ها) سویه های ایرانی انتروکوک فسیوم

الگوهای الکتروفورز ایجاد شده در هر بیوتایپ	*تولید اسید*				*بیوتایپ*
	سوکروز	سوربیتول	رافینوز	گلیسرول	
۱۱	+	+	−	+	۱
۸	+	+	−	−	۲
۵	+	+	+	+	۳
۶	−	+	−	+	۴
۳	+	−	−	+	۵
۳	+	−	−	−	۶
۲	−	−	−	+	۷

۴۲ الگوی الکتروفورتیک ایجاد کرد. متوسط اختلاف ژ نتیکی در این ۴۲ سویه ۰/۳۴ بود. بیشترین تنوع در آنزیم PGM,0/703 و سپس PGD(0/390), HEX2(0/432), GDH(0/683), GPD(0/131)LGG(0/087), NSP(0/133), HEX1(0/344), ADK(0/045 PGI(0/089)and مشاهده گردید (شکل ۳) شش الگوی الکتروفورز شامل بیش از یک ایزوله بودند که به بیووارهای مختلف تعلق داشتند .باقی ۳۶ الگو مربوط به یک ایزوله منفرد بودند. بیووارهای مشابه با الگوهای مقاومت مشابه به ETs مختلف

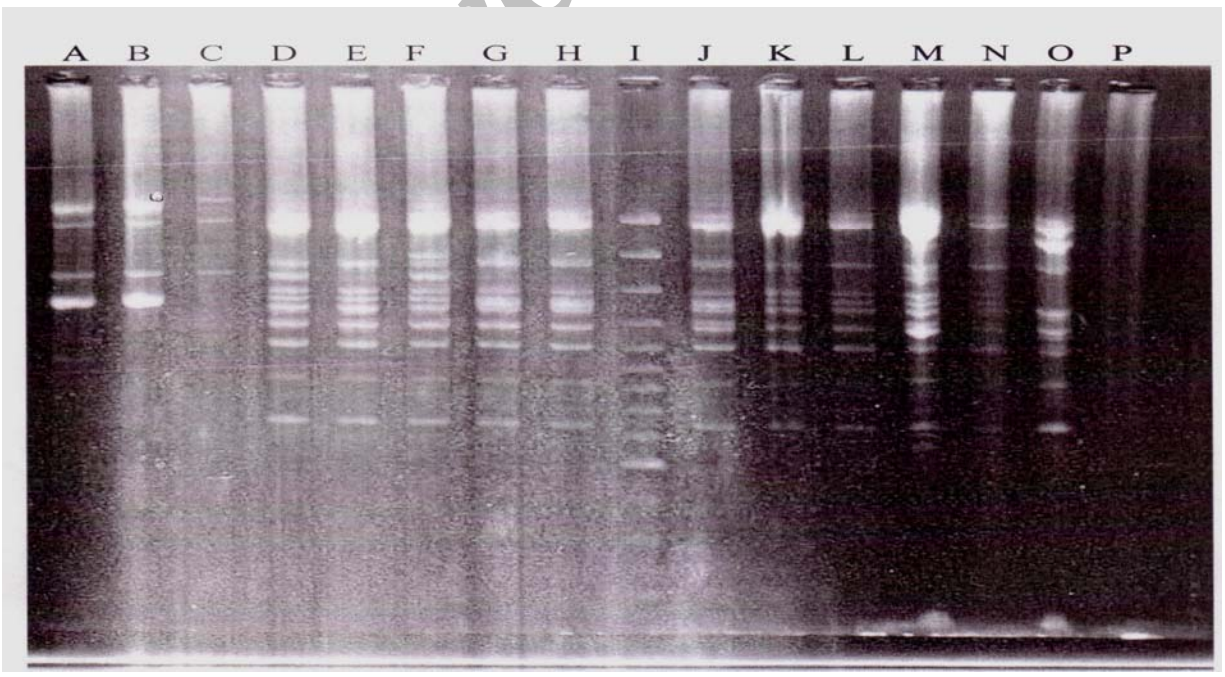
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- پلی مورفیسم DNA بین سویه های انتروکوک به دست آمده توسط ERIC AP4 PCR.

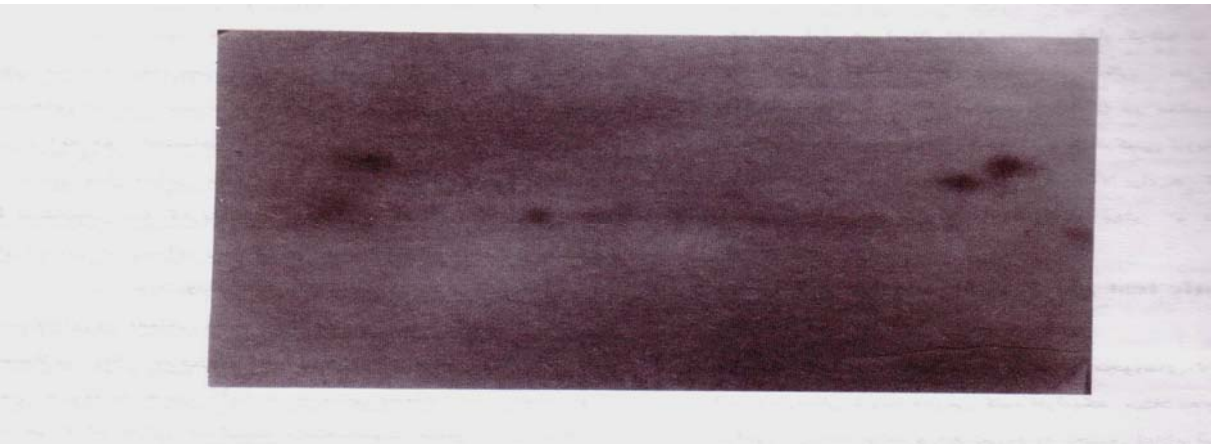
ردیف ها: A تا H و J تا M مربوط به انتروکوک فسیوم می باشند I نردبان 100bp (fermentas)، N و O مربوط به انتروکوک فکالیس هستند ایزوله های مشابه (ردیف های E و L توسط پرایمر Box2R از یک دیگر متمایز شدند



شکل ۲- افتراق سویه های انتروکوک فسیوم توسط Box2R PCR.

ردیف ها: A تا C انتروکوک فکالیبس D تا H و J تا O انتروکوک فسیوم I نردبان 100bp (Fermentas) ایزوله های مشابه در ردیف های G, H و L, N توسط MEE و پرایمر های ERIC-AP4 از یک دیگر متمایز گشتند

www.SID.ir



شکل ۳- رنگ آمیزی آنزیم گلوکز فسفات دهیدروژناز. سه باند فوقانی مربوط به سویه های انتروکوک فکالیس و سایر باند ها انتروکوک فسیوم هستند

زمانی که PCR با استفاده از پرایمر ERIC-AP4, BOX انجام شد ۶۰ ایزوله به ۴۷ تایپ متمایز شدند. تعداد باندهای DNA تولید شده توسط ERIC-AP4 PCR از ۸ تا ۱۷ برای ایزوله‌های مختلف متغیر بود (سایز ۰/۱ تا ۵ کیلو بایت). در صورت استفاده از پرایمر BOX قطعات DNA کمتری در امپلی فیکاسیون ایجاد شد. با استفاده از این پرایمر ۳۵ fingerprint ایجاد شد. تشابه ماتریکس‌ها از طریق الگوهای ایجاد شده توسط هر پرایمر به طور جدا گانه محاسبه شد و ارتباطات بین سویه‌ها با ماتریکس مقایسه گردید.

به غیر از چند استثناء هیچ نوع همبستگی بین نتایج بیوتایپینگ MEE و PCR مشاهده نگردید به استثناء ۴ ایزوله مقاوم به وانکومایسین که به بیووار ۳ (n=2) و ۴ (n=2) تعلق داشتند. این ایزوله‌های VRE الگوهای مقاومت مشابه را نشان دادند و ۲ ET متفاوت و ۵ باند DNA ایجاد کردند. سایر ایزوله‌ها که درMEE (n=18) مشابه بودند توسط PCR از یکدیگر افتراق داده شدند. ایزوله‌های مشابه در الگوهای باند DNA نیز توسط MEE از یک دیگر متمایز گشتند. حداقل و حداکثر فاصله ژنتیکی بین ایزوله‌ها ۰/۰۳۲ و ۰/۵۴۸ به ترتیب بود. ایزوله هایی که توسط یک پرایمر مشابه تشخیص داده می‌شدند با استفاده از پرایمر دوم از هم جدا می‌شدند و به طور مشابه ایزوله‌هایی که الگوی DNA مشابه با هر دو پرایمر ایجاد می‌کردند توسط MEE از یکدیگر متمایز می‌گشتند. ترکیب دو تکنیک ۵۶ الگوی مختلف ژنتیکی را نشان داد.

هیچ‌گونه ارتباط با اهمیتی بین گونه‌ها مشاهده نشد که نشانه این است که نو ترکیبی ژنتیکی ممکن است به طور مکرر بین سویه‌ها رخ دهد. کلیه سویه‌های مقاوم به وانکومایسین به تیکوپلانین نیز غیر حساس بودند و ژن VanA را در بررسی PCR نشان دادند.

بحث

مطالعه ما اولین بررسی بر روی مشخصات فنوتایپی و ارتباطات ژنتیکی سویه‌های ایرانی انتروکوک فسیوم می‌باشد. ترکیب PCR (جهت تایپینگ) مانند REP-PCR و MEE برای انتروکوک فسیوم تا به حال به کار برده نشده است. در این مطالعه ما نشان دادیم که MEE در ترکیب با PCR fingerprinting قادر به افتراق سویه‌های unrelated انتروکوک می‌باشد. این مطالعه محدود به سویه‌هایی است که از بیماران چند بیمارستان تهران در طول سه سال متوالی بدست آمده‌اند و انتظار می‌رفت که سویه‌های حاصله از بیماران در یک بخش با یکدیگر مرتبط باشند. اما به طور معکوس به استثناء چند مورد, ایزوله‌های انتروکوک فسیوم این بیماران به بیووارهای مختلف و ETS (الگوهای الکتروفورز) متنوع

Archive of SID

www.SID.ir

تعلق داشتند که توسط PCR از یکدیگر افتراق داده شدند. جداسازی سویه‌های غیر مرتبط از نظر ژنتیکی در سویه‌های انتروکوک فسیوم ایجاد کننده عفونت بیمارستانی در یک بخش یا بین بخش‌های مختلف یک بیمارستان قبلا ثابت شده و گزارش شده بود(۹).

اطلاعات حاصله از MEE نیز نشان داد که سویه‌ها, کلونال نبوده و حتی در بخش‌های یک بیمارستان نیز سویه‌های مشابه موجود نمی‌باشد. که این نشان دهنده این مطلب است که نوترکیبی recombination ممکن است به طور مکرر در جمعیت سویه‌ها رخ دهد. هتروژنیسیتی بین سویه‌های انتروکوک فسیوم حساس به وانکومایسین قبلا گزارش شده است (۱۰،۱۱). ما عفونت پلی‌کلونال و هتروژنیسیتی را در سویه‌های VRE گزارش کردیم.

در بررسی که توسط نلسون در UK بر روی سویه‌های فسیوم با روش PFGE انجام شد ۳۴ تا از ۴۰ سویه فسیوم Van B (۸۵٪) الگوهای مشابه و ۱۱ سویه از ۱۳ سویه مقاوم به وانکومایسین نیز با یکدیگر مشابه و مرتبط بودند در حقیقت انتشار کلونال یک سویه منفرد فسیوم گزارش گردید(۱۲). مطالعه انجام شده توسط peralda در ایالت متحده بر روی ۱۹ سویه فسیوم با ژنوتایپ Van B با روش PFGE الگوهای مشابه مرتبط به هم را نشان داد

این مطالعه ثابت کرد که بروز سویه‌های مقاوم به ونکومایسن در شهر اوهایوبه انتشار کلونال یک سویه واحد انتروکوک فسیوم VanB مرتبط می‌باشد(۶). Stosor در سال ۲۰۰۰ اپیدمی VRE را در مراکز درمانی ایلینویز به صورت پلی کلونال نشان داد(۷). Descheemaeker نیز پلی کلونالیتی را در سویه‌های انتروکوک بدست آمده از مدفوع بیماران دیالیزی بلژیکی گزارش کرد(۱۳).

هیچ یک از سویه‌های ایرانی انتروکوک فسیوم تولید بتالاکتاماز نکردند که این نتایج مشابه گزارشات سایر کشورها می‌باشد. در حالی که ایزوله‌های دانمارکی از سویه‌های ایرانی توسط MEE متمایز شدند, ۲ ایزوله USA با نمونه‌های ایرانی در یک گروه قرار گرفتند (درآنالیز انجام شده توسط دو تکنیک PCR و MEE) بنابراین مشخصات ژ نو تیپی انتروکوک‌های ایران با بعضی کشورها مشابه است. به هرحال گزارش چنین پلی کلونالیتی در سویه‌های فسیوم حایز اهمیت بوده و طبعا برنامه‌های مراقبت (surveillance) و سیاست‌های بهتری برای مصرف آنتی بیوتیک‌ها وپاکسازی میکروب از ناقلین و منابع حیوانی ... را می‌طلبد تا از انتشار سویه های مقاوم به بیمارستان‌های مختلف و ایجاد اپیدمی‌های بیمارستانی جلوگیری به عمل آید.

REFERENCES

1- Schouten, M.A, et al .prevalence of vancomycin resistant Enterococci in Europe Eur J clin microbial Infect Dis 2000; 19:816-822

2- Cunha BA. Strategies to control antibiotic resistance. semin resoir infect 2002; sp; 17(3):250-8.

3- Cetinkaya, Y, Falk, p, and myhall, G. Vancomycin resistant enterococci. clin microbial Rev 2000; 13: 686-707.

4- Huyche, MM, sahm, DF and Gilmore, MS. Multiple drug resistant enterococci: the nature of the problem and an agenda for the future. Emerg. Infect Dis 1998; 4: 239-249.

5- Moretti ML, Bratfich O.J, stucchi RB, Levi Z., levin AS, Duboc G.M, vormittag E and D Blum- Menezes. Clonal dissemination of van A – type glycopeptide- resistant Enterococcus faecalis between hospitals of two cities located lookm apart. Braz J med Biol Res September 2004; Volume 37(9) 1339-1343.

6-Peralda DE,Smulian AG, Cushion MT .Molecular epidemiology and antibiotic susceptibility of enterococci in Cincinnati. J Clin Microbiol 1997;35(9):2342-7

7-Stosor V,Kruszynski J, Surianno T, Noskin G, Peterson LR.Molecular epidemiology of VRE .Infect control Hosp Epidemiol.1999 oct;20(10):653-9

8- Robert. C, Moellering. Vancomycin resistant enterococci .clinical Infectious diseases: 1998; 26, P 1196-1199

9- Bingen E H, Deanmar E, lambert NY - Zechovsky and Elion J .Evidence for the genetic unrelatedness of nosocomial vancomycin resistant Enterococcus faecium strains in a pediatric hospital. J clin microbial1991; 29:1888-92

Archive of SID

www.SID.ir

10- Tomakaya RF and BE murroy. Analysis of enterococcus faecalis isolates from intercontinental sources by multilocus enzyme electrophoresis and pulsed gel electrophoresis .J clin microbial 1995; 33:2903-2907.
11- Homan W.L, tribe D, poznan ski S., Li M, Hogo G., spalburg E., Van Embden J.D And. willems R.J. Multilocus sequence typing for enterococcus faecium. J clin mirobiol 2002; 40: 1963-71.
12-Nelson RR, Mcgregor KF, BrownAR, Amyes SG,Young H.Isolation and characterization of glycopeptide – resistant enterococci from hospitalized patients over a 30 month period.J Clin Microbiol.2000 Jun ;38(6):2112-6

Archive of SID

www.SID.ir