Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol.15, No.4, Winter 2016, Pages 404 - 413

Isolation and Antibiotic Susceptibility Pattern among Vancomycin Resistant Enterococci Isolated from Clinical Samples of Different Parts of Rasoul-E-Akram Hospital

Arbabi L [1], Boustanshenas M [1], Adabi M [1], Fathizadeh S [1], Rasouli koohi S [1], Afshar M [1], Rahbar M [1,2], Majidpour A[1,3], Talebi M [4], Talebi-Taher M *[1]

1. Antimicrobial Resistance Research Center, Rasoul-e-Akram Hospital, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Department of Microbiology, Iranian Reference Health Laboratory, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran
3. Department of Infectious Diseases and Tropical Medicine, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
**** Corresponding author.*** Tel: +982166507056 Fax: +982166506864 E-mail: mtalebitaher2000@yahoo.com

Received: Apr 11, 2015 Accepted: Sep 27, 2015

Archive of SID

ABSTRACT

Background & objectives: *Enterococci* are among the normal microbial flora in human and animals digestive tract. The nosocomial pathogenicity of enterococci has emerged in recent years and has caused great concern due to developing resistance to many antimicrobial agents. The aim of this study was to investigate and identify the prevalence of VRE (vancomycin resistant enterococcus) within *Enterococci* isolates obtained from different parts of the hospital.

Methods: Putative *Enterococci* (n=120) were isolated on Membrane Filter *Enterococcus* Selective Agar Medium and supplemented with 2, 4 and 8 µgr/ml vancomycin in medical samples. A total isolates passed the standard biochemistry tests for the genus and species as well as their specific primers. The antibiotic susceptibility was determined by the disc diffusion method for 8 antibiotics. Microbiologically-influenced corrosion (MIC) of vancomycin was also done using Agar-dilution assay by CLSI recommendations.

Results: Results showed that 38 and 84 of the isolates were *E. faecium and E.*faecalis, respectively. According to antimicrobial susceptibility tests 45, 88, 103, 42, 83, 73, 54 and 95 of the isolates were resistant to vancomycin, tetracycline, gentamicin, chloramphenicol, ciprofloxacin, penicillin, ampicillin and erythromycin, respectively. MIC test on 70% of the isolates was>256 µgr/ml.

Conclusion: Despite the fact that the prevalence of VRE strains belongs to two species, *E. faecium* had high resistance to a broad range of antibiotics. The results of this study indicate the important role of medical samples as reservoirs of resistance elements. Early detection of VRE with their virulence trait will help in preventing the spread of vancomycin resistant enterococcus species and urgent infection control is required in hospital setting.

Keywords: Enterococcus; VRE; Tehran.

www.SID.ir

جداسازی و بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های انتروکوک مقاوم به ونکومایسین از نمونه‌های بدست آمده از بخش‌های مختلف بیمارستان رسول اکرم (ص) تهران

*لیلا اربابی[1]، مینا بوستان شناس[1]، مریم آدابی[1]، سارا فتحی زاده[1]، سمیرا رسولی کوهی[1]، مستانه افشار[1]، محمد رهبر[1و2]، علی مجیدپور[1و3]، ملیحه طالبی[4]، مهشید طالبی طاهر[1]**

۱. مرکز تحقیقات مقاومت‌های میکروبی، بیمارستان رسول اکرم، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران ایران ۲. گروه میکروبیولوژی، آزمایشگاه مرجع سلامت، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران ۳. گروه بیماری‌های عفونی و طب گرمسیری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران ٤. گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه عوم پزشکی ایران، تهران ، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۶۶۵۰۷۰۵۶ ۰۲۱ فاکس: ۶۶۵۰۶۸۶٤ ۰۲۱ پست الکترونیک: mtalebitaher2000@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: انتروکوک ها فلور نرمال دستگاه گوارش انسان، پرندگان و سایر حیوانات هستند که از مهم‌ترین عوامل رایج در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شوند. توانایی ایجاد مقاومت به چندین آنتی بیوتیک و ظرفیت بالای آنها برای انتقال افقی ژن‌ها؛ این گروه از باکتری‌ها را به یک گروه مناسب و ایده آل برای تحقیق، جهت بررسی مقاومت به آنتی بیوتیک تبدیل نموده است در تحقیق حاضر مقاومت دارویی گونه های مختلف انتروکوک بر علیه ونکومایسین و ۷ آنتی بیوتیک اختصاصی دیگر تعیین گردید.

روش کار: ۱۲۰ سوش انتروکوک جدا شده از بیمارستان رسول اکرم شهر تهران جمع آوری گردید. انتروکوک‌ها با روش‌های استاندارد تشخیص داده شدند و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تا حدگونه شناسایی گردیدند. آزمون حساسیت به آنتی بیوتیک ها طبق روش استاندارد دیسک دیفیوژن CLSI انجام شد. مقاومت دارویی (MIC) با روش آگار دایلوشن بر روی نمونه های مقاوم به ونکومایسین تعیین گردید.

یافته ها: از ۱۲۰ سویه انتروکوک جداشده از بیماران بخش‌های مختلف بیمارستان رسول اکرم ٧٤ سویه (۶۱٪) *Enterococcus faecalis* و ٤۶ سویه (۳۸٪) *Enterococcus faecium* بودند. مقاومت به آنتی بیوتیک های. ونکومایسین، تتراسایکلین، جنتامایسین، کلرامفنیکل، سیپروفلوکساسین، پنی سیلین، آمپی سیلین و اریترومایسین بترتیب ۳۷٪، ۷۳٪، ۸۶٪، ۳۵٪، ۶۹٪، ۳۱٪، ٤۵٪ و ۷۹٪ بود. ٤۵ سویه (۳۷٪) مقاوم به ونکومایسین بودند. ۷۰٪ از سویه ها نیز دارای MIC≥256 µg/ml بودند. علیرغم اینکه شیوع سویه های VRE متعلق به هر دوگونه بود، اما *E. faecium* بالاترین میزان مقاومت به ونکومایسین را داشت.

نتیجه گیری: افزایش سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک به خصوص ونکومایسین در میان انتروکوک ها، تهدید جدی برای بیمارستان‌های ایران بوده و موجب محدودیت در گزینه های درمانی برای بیماران مبتلا به عفونت‌های بیمارستانی می‌گردد. نتایج این مطالعه نشان دهنده نقش بسیار مهم نمونه های بیمارستانی بعنوان مخازن شاخص‌های مقاومت است، بنابراین باید نسبت به نظارت دقیق بر سیستم بهداشتی وکنترل عفونت جهت جلوگیری از انتشار آن توجه شایانی مبذول داشت.

واژه های کلیدی: انتروکوک، VRE، تهران

دریافت: ۹٤/۱/۲۲ **پذیرش:** ۹٤/۷/۵

www.SID.ir

مقدمه

حضور دائمی انتروکوک در دستگاه گوارش انسان و حیوانات به عنوان فلور نرمال، اهمیت بالینی آنها در ایجاد عفونت، توانایی ایجاد مقاومت به چند آنتی‌بیوتیک و ظرفیت بالای آنها برای انتقال افقی ژن‌ها؛ این گروه از باکتری‌ها را به یک گروه مناسب و ایده‌آل برای تحقیقات اکولوژیک جهت ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک تبدیل نموده است (۱،۲). حداقل ۱۲ گونه از انتروکوک ها وجود دارند، *E. faecalis* شایعترین آنها بوده و حدود ۸۵ تا ۹۰ درصد از عفونت‌ها ی با انتروکوک را ایجاد می‌نماید (۱،۲). در حالی‌که *E. faecium* حدود ۱۰-۵٪ از عفونت‌ها را بوجود می‌آورد و ۲-۱٪ از عفونت‌ها توسط *E. gallinarum* و *E. casseliflavus* بوجود می‌آید (۴،۳). انترو کو ک هاعوامل شایع در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی در بخش‌های مراقبت ویژه می‌باشند. از سال ۱۹۷۰ تا کنون انتروکوک ها به عنوان یکی از عوامل ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی مطرح شده‌اند. حداقل ۱۶ اپیدمی ناشی از انتروکوک های چند مقاومتی از سال ۱۹۸۹ تا سال ۱۹۹۸ گزارش شده است که همه آنها به جز دو مورد به دلیل *E. faecium* بوده‌اند. مصرف بی‌رویه و بدون نظارت آنتی‌بیوتیک‌ها و همچنین استفاده از این داروها در غذای دام و طیور (مانند آووپارسین، باسیتراسین، ویرجینیامایسین، تتراسیکلین و آمپی‌سیلین) به عنوان فاکتور افزاینده رشد، می‌تواند یکی از عوامل ظهور انتروکوک‌های مقاوم به ونکومایسین یا VRE باشند، سهولت در تبادل ژن‌های مقاوم ویرولانت بین سویه‌های انتروکوک و توانایی بالای ارگانیسم در انتقال بین افراد و بیماران و محیط، فراوانی قابلیت انتشار این سویه‌ها را در بین محیط‌های مختلف تأیید می‌کند. انترو کوکها ی حساس و مقاوم به ونکومایسین برای مدت ۳۰ دقیقه در دست افراد زنده باقی می‌ماند. شستشو با آب و صابون قادر به از بین بردن آنها نیست. این باکتری‌ها به کلرهگزیدین آب‌دار نیز مقاومند و تنها الکل و کلرهگزیدین الکلی می‌توانند انتروکوک ها را از بین ببرند. یکی از شایع‌ترین راه‌های انتقال انتروکوک ها از طریق دست‌های پرسنل بیمارستان است (۵). مواردی همچون اقامت طولانی مدت در بیمارستان، استفاده نامناسب از آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر نسل سوم سفالوسپورین‌ها، ونکومایسین، استفاده از آووپارسین در غذای حیوانات، پیوند اعضا، مصرف مترونیدازول، اعمال جراحی، دیابت، لوسمی‌ها، ضعف سیستم ایمنی به هر دلیل و نارسایی کلیه به عنوان عوامل مستعدکننده در کلونیزاسیون یا عفونت بیماران با این میکروارگانیسم‌ها مطرح هستند (۷-۵). تاکنون ونکومایسین تقریباً تنها داروئی بود که می‌توانست به طور دائم جهت درمان عفونت‌های ناشی از انترو کوکهای مقاوم به چند دارو به کار برده شود (۸،۹). ونکومایسین یک آنتی‌بیوتیک گلیکوپپتیدی است که به جای پنی‌سیلین همراه با آمینوگلیکوزیدها در درمان عفونت‌های انتروکوکی تجویز می‌شود. به دلیل فعالیت این آنتی‌بیوتیک‌ها در برابر استافیلوکوک‌های مقاوم به متی‌سیلین و سایر باکتری‌های گرم مثبت، این داروها به طور گسترده‌ای جهت درمان و پیشگیری بر علیه عفونت‌های ناشی از این ارگانیسم‌ها به کار برده می‌شوند (۱۰،۱۱). در بسیاری از مطالعات از انترو کوکها به عنوان یکی از منابع مهم ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک نام برده شده است، ولی در مورد میزان حضور آنها در بیمارستان‌ها اطلاعات کمی‌گردآوری شده است. کاملاً واضح است که استفاده بی‌رویه و بدون نظارت آنتی‌بیوتیک‌ها جهت درمان و یا کنترل عفونت در انسان و یا به عنوان فاکتورهای رشد در غذای حیوانات یکی از دلایل شیوع باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک است.

این مطالعه با هدف شناسایی و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان سویه‌های انتروکوک مقاوم به ونکومایسین جداشده از نمونه‌های بدست آمده از

Archive of SID

www.SID.ir

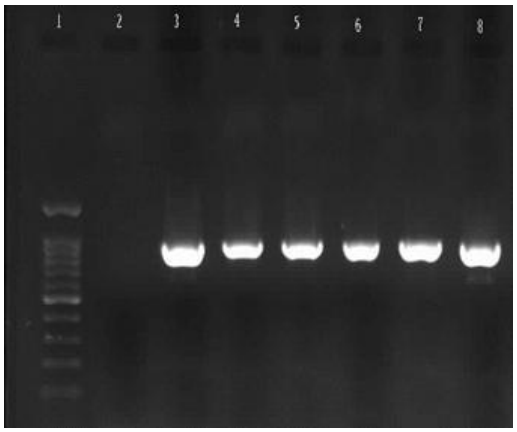
بخش‌های مختلف بیمارستان رسول اکرم تهران به انجام رسیده است.

روش کار

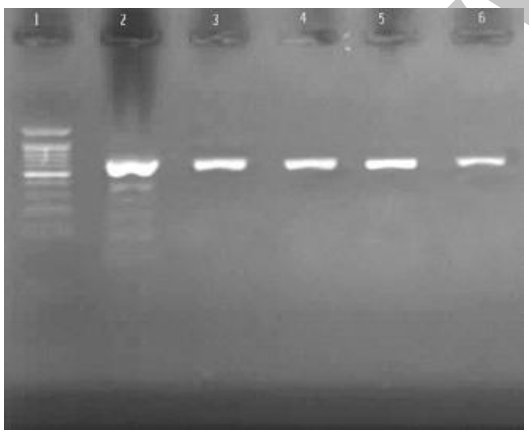
در این مطالعه که از نوع توصیفی- مقطعی می‌باشد، در مجموع ۱۲۰ ایزوله مختلف انتروکوک در فصل‌های بهار، تابستان و پاییز در سال ۱۳۹۲ از بخش‌های مختلف بیمارستان رسول اکرم شهر تهران، نظیر اورژانس، ICU، جراحی داخلی و عفونی، بخش زنان و بخش اطفال همراه با اطلاعات بیمار شامل جنس، سن و بستری یا سرپایی بودن جمع‌آوری شد. در هر بار نمونه‌گیری، از نمونه‌های سواپ‌رکتال، مدفوع، ادرار و زخم، واژینال و... نمونه‌برداری شد. جهت غربالگری اولیه، از آزمایشگاه همکار درخواست شد که پلیت اولیه کشت داده شده را در اختیار محققین قرار دهند، سپس برای اینکه سویه‌ای از دست نرود و تمام باکتری‌های موجود در کلنی‌ها ارزیابی شوند، سواپ استریل با تمام سطح پلیت تماس داده شده و سواپ به محیط Enterococcus Selective Agar حاوی ۶۴ µg/ml پورد آنتی‌بیوتیک ونکومایسین برده شد تا حتی یک کلنی حاوی VRE از دست نرود. کلنی‌های بدست آمده به پلیت‌های حاوی محیط bile esculin agar (Germany,Merck,) منتقل شده و به مدت ۲۴ ساعت دردمای ۴۵°C قرار گرفتند (۱۲-۱۰). پس از این مرحله، کلنی‌های سیاه رنگی مشخص گردیدند که جهت انجام آزمون‌های کاتالاز، Pyrrolidonylaminopeptidase (PYR)، رشد در محیط ۶/۵NaCl٪ مورد بررسی قرار گرفتند. بنابراین سویه‌های کاتالاز منفی، بایل اسکولین و PYR مثبت که قابلیت رشد درمحیط ۶/۵ NaCl٪ و دمای ۴۵°C را داشتند، بعنوان جنس انتروکوک انتخاب و با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی حرکت، تخمیر قندهای ال-آرابینوز، لاکتوز، متیل آلفا-دی گلوکوپیرانوزید، مانیتول و ال- سوربوز و همچنین آزمون بررسی وجود یا عدم وجود پیگمان، تا حد گونه شناسایی شدند (۱۲-۱۰). پس از شناسایی اولیه گونه‌های مختلف، جهت تأیید این گونه‌ها از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و برنامه حرارتی زیر استفاده شد (۱۳-۱۰)، از روش boiling جهت استخراج DNA استفاده گردید (۱۳).

95°C (4 min), 30 cycles {95°C (30 s), 52°C (1 min), 72°C (1 min)}, 72°C for 7 min

(شکل ۱ و ۲).



شکل ۱. ستون ۱- مارکر ۱۰۰bp، ستون ۶-۳ نمونه های *Enterococcus faecalis*



شکل ۲. ستون ۱- مارکر ۱۰۰bp، ستون ۶-۳ نمونه های *Enterococcus faecium*

تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی

الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های مختلف نسبت به ۸ آنتی‌بیوتیک Vancomycin (30mg); gentamicin(10mg)، erythromycin(15mg)، chloramphenicol(30mg)، tetracycline(30mg)،

Archive of SID

www.SID.ir

penicillin(10 ،ciprofloxacin (5mg)، unit)، ampicillin(10mg) به روش دیسک دیفیوژن با استفاده از استانداردهای Clinical Laboratory and Standard Institute (CLSI) تعیین گردید (۱۳-۱۱). سپس سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین جهت انجام آزمون MIC به روش Agar-dilution بر اساس استانداردهای CLSI انتخاب شدند و MIC آنها تعیین گردید (۱۳،۱۴).

یافته‌ها

از میان ۱۲۰ نمونه جمع‌آوری شده، در مجموع ۱۰۰ نمونه ادرار، ۹ نمونه خون، ۹ نمونه مدفوع و ۲ نمونه واژینال جمع‌آوری شدند. نمونه‌های جمع‌آوری شده متعلق به ۴۶ مرد و ۷۴ زن می‌باشد. ٪۲۰ نمونه‌ها مربوط به گروه سنی ۰ تا ۱۶ سال ، ٪۲۹ گروه سنی ۱۷-۵۵ سال و ٪۳۳ مربوط به گروه سنی بالای ۵۶ سال است. بر اساس نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی و ژنتیکی مختلف جهت تعیین جنس و گونه ایزوله‌های مختلف انتروکوک، در مجموع از ۱۲۰ ایزوله جداسازی‌شده ۲ گونه مختلف شناسایی شد. بدین ترتیب که ۷۴ ایزوله بعنوان *E. faecalis* و ۴۶ ایزوله بعنوان *E. faecium* شناسایی شدند. نتایج این مطالعه نشان داد که در میان این دو گونه، *E. faecalis* گونه غالب بود و پس از آن گونه *E. faecium* در رتبه بعدی قرار داشت. روش‌های کلاسیک تشخیص انتروکوک ها که در آن از تست‌های بیوشیمیایی استفاده می‌شود، بسیار وقت‌گیر و پرهزینه هستند و در برخی موارد از تشخیص دقیق گونه‌های انتروکوکی عاجزند، ولی روش PCR سریع و دقیق است و استفاده از آن در حجم بالای نمونه‌ها مقرون به صرفه می‌باشد. در این مطالعه نیز تعیین جنس و گونه به هر دو روش کلاسیک و مولکولی انجام گرفت و در تمام موارد نتایج حاصل از روش PCR با نتایج تست‌های بیوشیمیایی همخوانی داشت. تمامی ۱۲۰سویه انتروکوک جدا شده به روش دیسک دیفیوژن، جهت بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی این سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های نام برده مورد بررسی قرار گرفته‌اند که نتایج آن در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. نتایج حاصل از آنتی‌بیوگرام در مورد ۸ آنتی‌بیوتیک، نشان‌دهنده مقاومت‌های چندگانه سویه‌های مختلف می‌باشد.

جدول ۱. مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان ایزوله‌های مختلف

آنتی‌بیوتیک	سویه‌های VRE (درصد)	سویه‌های غیرVRE (درصد)
ونکومایسین	۱۰۰	۰
پنیسیلین	٪۲۲	٪۱۱
آمپی سیلین	٪۳۰	٪۱۵
جنتامایسین	٪۷۶	٪۱۰
سیپروفلوکساسین	٪۴۷	٪۲۲
اریترومایسین	٪۵۱	٪۲۸
کلرامفنیکل	٪۲۱	٪۱۴
تتراسیکلین	٪۵۸	٪۱۵

همانگونه که در این جدول نشان داده شده، بالاترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین بوده و پس از آن اریترومایسین و تتراسایکلین در مراتب بعدی قرار داشتند. کمترین مقاومت نیز نسبت به ونکومایسین مشاهده گردید. بر اساس نتایج مشاهده‌شده، ۱۳ سویه نسبت به تمامی ۸ آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند، اما ۲ سویه نسبت به ۵ آنتی‌بیوتیک ونکومایسین، تتراسایکلین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین و اریترومایسین مقاوم بودند. همچنین ۹ سویه نیز نسبت به ۴ دسته آنتی‌بیوتیک مختلف مقاوم بودند. ۱۰ سویه نسبت به ۲ آنتی‌بیوتیک، ۱۱ سویه نسبت به ۳ آنتی‌بیوتیک و ۷ سویه نیز تنها نسبت به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین مقاوم بودند و نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها حساسیت نشان دادند (جدول ۲).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان ایزوله‌ها

الگوی مقاومت	تعداد ایزوله‌ها	درصد ایزوله‌ها
Van, Tet, Gen, Cip, Ery, Amp, Pen, Chl	۱۳	۱۱
Van, Tet, Gen, Cip, Ery	۲	۱/۵
Tet, Gen, Cip, Ery	۹	۷/۵
Chl, Tet, Gen	۱۱	۹/۱
Tet, Gen	۱۰	۸/۳
Gen	۷	۵/۸

* Van: ونکومایسین, Tet: تتراسایکلین, Gen: جنتامایسین, Cip: سیپروفلوکساسین, Ery: اریترومایسین, Amp: آمپی سیلین, Pen: پنی سیلین, Chl: کلرامفنیکل

از ۴۵ سویه VRE، *E. faecium* تقریباً بیش از نیمی از سویه‌های مقاوم را به خود اختصاص داده است و پس از آن *E. faecalis* در جایگاه بعدی قرار داشت. همچنین مشاهده شد که گونه *E. faecium* بالاترین تعداد سویه‌های مقاوم را نسبت به بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها در اختیار دارد. هر دو گونه *E. faecium* و *E. faecalis* بالاترین مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین نشان می‌دهد.

پس از انجام آزمون MIC نسبت به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین بر روی ۴۵ سویه VRE مشخص گردید که ۷۰٪ سویه‌ها از مقاومت بالایی (MIC≥256 µg/ml) نسبت به ونکومایسین برخوردار بودند و همچنین در ۲۲٪ از سویه‌ها MIC≥64 µg/ml و در ۸٪ از سویه‌های VRE نیز MIC≥32 µg/ml بود.

بحث

به دلیل تغییرات ژنتیکی در میان سویه‌ها، تفاوت در فلور نرمال، تفاوت در نوع تجویز آنتی‌بیوتیک و مقاومت دارویی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها ی مختلف و همچنین تفاوت در میزان دسترسی به آنتی‌بیوتیک‌ها در میان اقشار مختلف جامعه، مقاومت دارویی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، از فراوانی متفاوتی در ایران و دیگر نقاط جهان برخوردار است. از آنجا که نمونه‌های بیمارستانی به عنوان یکی از مخازن عمده انتشار آلودگی در محیط مطرح می‌باشد، میزان شیوع مقاومت در آن می‌تواند با نمونه‌های محیطی مقایسه گردد (۱،۲). در این مطالعه همانند چندین مطالعه دیگر نشان داده شد که آمار *انتروکوک فکالیس* در ایجاد عفونت نسبت به سایر انتروکوک‌ها غلبه دارد و نیز میزان مقاومت *انتروکوک فاسیوم* بیشتر از *انتروکوک فکالیس* می‌باشد (۱۴-۱۲). با انجام این تحقیقات مشخص شد که در ایران شیوع گونه‌های VRE در میان نمونه‌های بیمارستانی از تنوع کمتری نسبت به نمونه‌های ماکیان، نمونه‌های موادغذایی و فاضلابی برخوردار است و شامل ۲ گونه *E. faecalis* و *E. faecium* می‌باشد، اما بطور کلی و بدون در نظر گرفتن مقاومت نسبت به ونکومایسین نیز شیوع گونه‌های مختلف انتروکوکی محدود به دو گونه فکالیس و فسیوم بود که از این نظر تنوع پایین‌تری را نسبت به نمونه‌های فاضلابی نشان داد (۱،۲). همانگونه که انتظار می‌رفت در این مطالعه گونه *E. faecalis* گونه غالب بود و بالاترین شیوع را داشت و پس از آن *E. faecium* در مرتبه دوم قرار داشت. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۱-۱۹۹۹ 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 (۱۵)، اما در مورد سویه‌های VRE علیرغم استفاده از محیط‌های واجد غلظت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک ونکومایسین گونه *E. faecium* بیشترین شیوع را داشت و از بالاترین مقاومت نسبت به ونکومایسین برخوردار بود، که این نتایج منطبق بر سایر مطالعاتی است که در ایران و در مورد نمونه‌های محیطی انجام گرفته است

Archive of SID

www.SID.ir

(۱۱،۱۳،۱۴). این امر می‌تواند ناشی از قابلیت و توانایی بالای گونه فسیوم در کسب مقاومت نسبت به عوامل ضدمیکروبی و همچنین شرایط نامساعد باشد که بواسطه این عوامل این سویه را تبدیل به یکی از قویترین پاتوژن‌های فرصت طلب نموده است (۱،۲). *انتروکوکوس فیسیوم* به صورت ذاتی مقاومت بالایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها نشان می‌دهد و توانایی کسب ژن‌های مقاومت را نیز از طریق پلاسمیدها و ترانسپوزون‌ها[1] دارد؛ به طوری که امروزه مشاهده شده است، مقاومت آنتی‌بیوتیکی گلیکوپپتیدی (ونکومایسین و تیکوپلانین) در بین انتروکوک ها به خصوص فیسیوم رو به افزایش است (۱۵،۱۶). مواردی همچون اقامت طولانی در بیمارستان، استفاده نامناسب از آنتی‌بیوتیک‌هایی چون نسل سوم سفالوسپورین‌ها و ونکومایسین، استفاده از اووپارسین[2] در غذای حیوانات، پیوند اعضا، مصرف مترونیدازول[3] اعمال جراحی، دیابت، لوسمی‌ها، ضعف سیستم ایمنی به هر دلیل و نارسایی کلیه به عنوان عوامل مستعدکننده در کلونیزاسیون یا عفونت بیماران با این میکروارگانیسم‌ها مطرح هستند (۵). در مقایسه با سایر مطالعاتی که در ایران بر روی نمونه‌های محیطی و بالینی انجام گرفته است، میزان شیوع مقاومت به ونکومایسین در این بیمارستان بسیار بالاتر از حد انتظار است، شاید دلیل این امر استفاده از محیط‌هایی واجد غلظت‌های متفاوتی از ونکومایسین جهت غربالگری سویه‌ها بوده است. اما در هر صورت مقاومت به ونکومایسین ۳۷٪ بود که در مقایسه با سایر مطالعاتی که در سراسر دنیا انجام گرفته است این میزان متفاوت و متغیر است. همچنین کوهن[4] در مطالعه خود درسال ۲۰۰۵ بر روی نمونه‌های بالینی، دامی و محیطی در اروپا میزان مقاومت به ونکومایسین را ۱۱-۸٪ گزارش نموده است (۱۷). علت انتشار سویه‌های مقاوم به ونکومایسین در اروپا و امریکا مربوط به استفاده بی‌رویه گلیکوپپتیدها در مراکز درمانی و به دنبال آن انتخاب این سویه‌ها در دستگاه گوارش انسان و کلونیزه‌کردن دستگاه گوارش افراد و یا انتقال ژن‌های مقاومت به باکتری‌های ساکن دستگاه گوارش، در حین عبور و نیز مصرف ترکیباتی مثل آووپارسین به عنوان مکمل غذای دام و محرک رشد ماکیان می‌باشد (۱،۲،۱۸). مقاومت نسبت به اریترومایسین در این تحقیق ۷۹٪ بود که میزان ۵۱٪ از این سویه انتروکوک های مقاوم به ونکومایسین (VRE) بوده است. این میزان مقاومت به اریترومایسین به دلیل مصرف بی‌رویه این آنتی‌بیوتیک در ایران است. اریترومایسین یکی از آنتی‌بیوتیک‌های مصرفی در صنایع غذایی نیز هست که در ایجاد مقاومت در انتروکوک ها موثر است (۱۸،۱۹). مقاومت به سیپروفلوکساسین ۶۹٪ و در سویه‌های مقاوم به ونکومایسین (VRE)، ۴۷٪ است. به واسطه موفقیت در درمان عفونت‌های دستگاه ادراری، این آنتی‌بیوتیک بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد و همانند سایر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت در *E. faecium* رایجتر از *E. faecalis* و گونه‌های دیگر است. در گزارشی از یونان در سال ۲۰۰۰ این مقاومت در *E. faecium* سه برابر مقاومت مشاهده‌شده در *E. faecalis* بوده است (۲۰). استابرینگ[5] نیز میزان مقاومت را در تمامی سویه‌ها و همچنین سویه‌های مقاوم به ونکومایسین بدست آمده از نمونه‌های مدفوع ۱۲٪ گزارش نموده است (۲۱). به طور کلی میزان مقاومت به جنتامایسین ۸۶٪ و در سویه‌های VRE حدود ۷۶٪ است. در این میان ۹۳٪ از *E. faecium* مقاوم به جنتامایسین بودند. لیاسین[6] و همکاران در سال ۱۹۹۸در سویه‌های یافت شده در فاضلاب بیمارستانی در سوئیس، میزان

[1] Transposons
[2] Avoparcin
[3] Metronidazole
[4] Kuhn
[5] Stobberingh
[6] Liassine

Archive of SID

www.SID.ir

مقاومت را در حدود ٤٪ گزارش دادند (۶). از طرفی خان[1] و همکاران در سال ۲۰۰٤ در آمریکا میزان مقاومت به جنتامایسین را حدود ۹۶٪ گزارش نمودند (۷).

در این مطالعه پایین‌ترین مقاومت نسبت به ونکومایسین مشاهده شد که در حدود ۳۷٪ بود. این میزان هرچند که بالاتر از مقاومت سویه‌های جداشده از نمونه‌های محیطی و بالینی است، اما در مجموع مقاومت به این آنتی‌بیوتیک پایین است، که این امر شاید بدلیل استفاده پایین از این آنتی‌بیوتیک بواسطه اثرات سوء آن در شرایط *in vivo* باشد. افزایش انتروکوک مقاوم به ونکومایسین مشکل جدی در درمان عفونت‌های انتروکوکی ایجاد کرده است. از سوی دیگر خطر افزایش انتقال عامل این مقاومت به بقیه گونه‌های حساس به ونکومایسین وجود دارد (۲۲،۲۳)؛ و از طرفی دیگر انواع گونه‌های انتروکوک توانایی تکثیر و بقاء در خاک و آب را دارند و این مقاومت در محیط برای مبارزه با آنها بسیار مشکل‌ساز است (۲٤)؛ بنابراین بایستی توجه زیادی را به جلوگیری از انتقال و پخش میکروارگانیسم‌ها بخصوص انواع مقاوم آنها در طبیعت معطوف داشت. سلامت عمومی جامعه ممکن است با انتقال VRE بویژه اگر میکروارگانیسم از طریق مدفوعی به آب‌های سطحی انتقال یابد، در معرض تهدید قرار گیرد. زیرا این آبها ممکن است بدون هیچگونه توجهی مورد مصرف قرار گیرند (۲۷-۲۵).

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد شایع‌ترین مکان جداسازی انتروکوک‌ها دستگاه ادراری می‌باشد و اکثر عفونت‌های انتروکوکی منشا داخلی دارند. انتروکوک‌های مقاوم به ونکومایسین به دلیل پخش سریع، همراه بودن با عفونت‌ها و میزان مرگ و میر بالا، محدودیت داشتن برای درمان و امکان انتقال ژن‌های مقاومت به ونکومایسین به دیگر پاتوژن‌های بیماری‌زا و شایع‌تر مانند *استافیلوکوک اورئوس*، به یک پاتوژن مهم بیمارستانی تبدیل شده است. میزان مقاومت به ونکومایسین اهمیت توجه به شیوع VRE را در بیمارستان‌های شهر تهران جلب می‌نماید. ریشه‌کنی حتی یک انتروکوک مقاوم به ونکومایسین از یک بیمارستان دشوار است.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر با پشتیبانی مالی دانشگاه علوم پزشکی ایران با شماره گرنت ۲۳۱۳۹ و در مرکز تحقیقات مقاومت‌های میکروبی انجام گرفت.

[1] Khan

References

1-Rahimi F, Talebi M, Saifi M, Pourshafie MR. Distribution of enterococcal species and detection of vancomycin resistance genes by multiplex PCR in Tehran sewage. Iran Biomed J. 2007 Jul pg 161-7.

2- Talebi M, Rahimi F, Katouli M, Möllby R, Pourshafie MR. Epidemiological link between wastewater and human vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates. Curr Microbiol. 2008 May pg 468-73

3- Magi G, Capretti R, Paoletti C, Pietrella M, Ferrante L, Biavasco F, et al. Presence of a vanA-carrying pheromone response plasmid (pBRG1) in a clinical isolate of *Enterococcus faecium*. Antimicrob. Agents Chemother. 2003 May ;47(5):1571-6.

4- Pootoolal J, Neu J, Wright GD. Glycopeptide antibiotic resistance. Annual review of pharmacology and toxicology. 2002;42(1):381-408.

5- Ryan L, O'Mahony E, Wrenn C, FitzGerald S, Fox U, Boyle B, et al. Epidemiology and molecular typing of VRE bloodstream isolates in an Irish tertiary care hospital. J Antimicrob Chemother 2015 Jul :dkv185.

Archive of SID

www.SID.ir

6- Liassine N, Frei R, Jan I, Auckenthaler R. Characterization of glycopeptide-resistant enterococci from a Swiss hospital .J Clin Microbiol. 1998 Jul; 36(7):1853-8.
7- Khan SA, Nawaz MS, Khan AA, Hopper SL, Jones RA, Cerniglia CE. Molecular characterization of multidrug-resistant Enterococcus spp. from poultry and dairy farms: detection of virulence and vancomycin resistance gene markers by PCR. Molecular and cellular probes. 2005 Feb;19(1):27-34.
8- Iversen A, Kühn I, Franklin A, Möllby R. High prevalence of vancomycin-resistant enterococci in Swedish sewage. Appl Environ Microbiol. 2002 Jun;68(6):2838-42.
9- Satake S, Clark N, Rimland D, Nolte FS, Tenover FC. Detection of vancomycin-resistant enterococci in fecal samples by PCR. JCM. 1997 Sep;35(9):2325-30.
10- Aarestrup FM, Agerso Y, Gerner–Smidt P, Madsen M, Jensen LB. Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans in the community, broilers, and pigs in Denmark. Diagn Microbiol Infect Dis. 2000 Jun;37(2):127-37.
11- Wood AJ, Murray BE. Vancomycin-resistant enterococcal infections. N Engl J Med. 2000; 342(10):710-21.
12- Farrell D, Morrissey I, De Rubeis D, Robbins M, Felmingham D. A UK multicentre study of the antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens causing urinary tract infection. J Infect. 2003 Feb ;46(2):94-100.
13- Wikler MA. Methods for dilution antimicrobial ausceptibility tests for bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Eighth Edition 2003.
14- Gikas A, Christidou A, Scoulica E, Nikolaidis P, Skoutelis A, Levidiotou S, et al. Epidemiology and molecular analysis of intestinal colonization by vancomycin-resistant enterococci in Greek hospitals. JCM. 2005 Nov ;43(11):5796-9.
15- Leblank DJ, Lee LN, Inamin M. Cloning and nucleotide base sequence analysis of a spectinomycin adenyltransferase AAD(9) determinant from *Enterococcus faecalis*. Antimicrob. Agents Chemother. 1991 Sep;35:18
16- Simjee S, White D, McDermott P, Wagner D, Zervos M, Donabedian S, et al. Characterization of Tn1546 in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolated from canine urinary tract infections: evidence of gene exchange between human and animal enterococci. JCM. 2002 Dec ;40(12):4659-65.
17- Kühn 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 environment in different European regions. Appl Environ Microbiol. 2005 Sep ;71(9):5383-90.
18- Fatholahzadeh B, Hashemi FB, Emanei M, Aligholi M, Nakhjavani FA, Kazemi B. Detection of vancomycin resistant enterococci (VRE) isolated from urinary tract infections (UTI) in Tehran, Iran. Daru J Pharm Sci. 2006 Sep;14(3):141-5.
19- Rafiei Tabatabaei S, Karimi A, Navidinia M, Fallah F, Tavakkoly Fard A, Rahbar M. A study on prevalence of vancomycin-resistant enterococci carriers admitted in a children hospital in Iran. Ann Biol Res. 2012 Oct ;3(12):5441-45.
20- Platsouka ED, Dimopoulou H, Miriagou V, Paniara O. The first clinical isolates of *Enterococcus faecium* with the VanA phenotype in a tertiary Greek hospital. J Antimicrob Chemother. 2001 Jan. 46:1039–1040
21- Stobberingh E, van den Bogaard A, London N, Driessen C, Top J, Willems R. Enterococci with glycopeptide resistance in turkeys, turkey farmers, turkey slaughterers, and (sub) urban residents in the south of The Netherlands: evidence for transmission of vancomycin resistance from animals to humans?. Antimicrob Agents Chemother. 1999 Sep;43(9):2215-21
22- Kawalec M, Pietras Z, Daniłowicz E, Jakubczak A, Gniadkowski M, Hryniewicz W, et al. Clonal structure of *Enterococcus faecalis* isolated from Polish hospitals: characterization of epidemic clones. JCM. 2007 Jan;45(1):147-53.
23- Novais C, Coque TM, Ferreira H, Sousa JC, Peixe L. Environmental contamination with vancomycin-resistant enterococci from hospital sewage in Portugal. Appl Environ Microbiol. 2005 Jun ;71(6):3364-8.
24- El Amin N, Wretlind B, Wenger A, Brandt V, Bille J. Ampicillin-sensitive, imipenem-resistant strains of *Enterococcus faecium*.J Clin Microbiol. 2002 Feb ;40(2):738-.

Archive of SID

www.SID.ir

25- Talebi M, Rahimi F, Katouli M, Kühn I, Möllby R, Eshraghi S, et al. Prevalence and antimicrobial resistance of enterococcal species in sewage treatment plants in Iran. Water Air Soil Poll. 2007 Jun; 185(1-4):111-9.
26- Mundy L, Sahm D, Gilmore M. Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance. CMR. 2000 Oct ;13(4):513-22.
27- Popiel KY, Miller MA. Evaluation of Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE)-associated morbidity following relaxation of VRE screening and isolation precautions in a Tertiary Care Hospital. Infection Control. 2014 May ;35(07):818-25.

Archive of SID

www.SID.ir