مقاله پژوهشی

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۳۲ شماره ۱ فروردین و اردیبهشت ۱۳۸۹ صفحات ۶۷- ۶۱

مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله های انتروکوکس جداشده از نمونه های بالینی

فرزانه فیروزه: گروه میکروب و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
محمد تقی اخی: گروه میکروب و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط
E-mail: M_T_Akhi@Yahoo.com
مهوش اسکوئی: گروه میکروب و ویروس شناسی، انستیتو پاستور ایران

دریافت: ۸۷/۳/۲۵ ، پذیرش: ۸۸/۷/۹

چکیده

زمینه و اهداف: افزایش شیوع روزافزون عفونت با انتروکوک‌ها و توانایی این میکروارگانیسم‌ها در ایجاد عفونتهای خطرناک مثل آندوکاردیت، سپتی‌سمی، منتژیت و عفونت دستگاه ادراری لزوم مطالعه و بررسی بیشتر در این زمینه را نشان می‌دهد. در این مطالعه الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های انتروکوک جدا شده از نمونه های بالینی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: از سال ۱۳۸۱- ۱۳۸۰ انتروکوکوس های ایزوله شده از نمونه‌های مختلف بالینی جمع آوری شد. مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به آنتی بیوتیک های رایج و وانکومایسین به روش دیسک آگار دیفیوژن صورت پذیرفت. برای آنتی بیوتیک وانکومایسین، تعیین حداقل غلظت مهار کننده MIC (Minimum Inhibitory Concentration) به روش ماکرو دایلوشن براث تست بر اساس کمیته استاندارد های بالینی و آزمایشگاهی CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) انجام گرفت. حضور یا عدم حضور DNA پلاسمیدی در میان انتروکوک های مقاوم و حساس به وانکومایسین مقایسه گردید.

یافته ها: از ۵۲ ایزوله انتروکوکسی جدا شده اکثرا انتروکوکوس فیکالیس (۹۲/۳ درصد) بوده و تنها تعداد کمی انتروکوکوس فیسیوم (۷/۷ درصد) جدا گردید و در میان باکتری‌های جدا شده دو ایزوله مقاوم به ونکومایسین (۳/۸درصد) وجود داشت (MIC $\geq$ 8µg/ml). با روش دیسک دیفیوژن مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های اگزاسیلین (۱۰۰٪)، پنی‌سیلین (۹۸/۱٪)، کوتریماکسازول (۹۴/۲٪)، داکسی سایکلین (84/6٪)، جتامایسن (۶۹/۲٪)، آمپی سیلین (۵۷/۷٪)، نیتروفورانتئین (۳۴/۶) و نیز مقاومت چندگانه در میان جدا شده ها مشاهده گردید. باندهای پلاسمیدی 4.5 kb، 17.2kb و23.5kb فقط در دوایزوله مقاوم به وانکومایسین مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان دهنده پیدایش ایزوله های انتروکوکهای مقاوم به وانکومایسین در میان انتروکوکها بود. مقاومت انتروکوک‌ها نسبت به اکثر آنتی بیوتیک های معمول افزایش یافته است..

کلید واژه ها: انتروکوکوس، مقاومت آنتی بیوتیکی، وانکومایسین

مقدمه

انتروکوک‌ها دومین یا سومین علت عفونت‌های بیمارستانی بوده و در حال حاضر حدود ۱۴درصد از جدا شده‌های خون در بخش مراقبت‌های ویژه را تشکیل می‌دهند (۱، ۲و ۳). عفونت‌های بیمارستانی ایجاد شده توسط انتروکوک‌ها هم امروزه یکی از مشکلات عمده بسیاری از بیمارستانها را تشکیل می‌دهند و به سرعت در حال افزایش در بسیاری از کشورهای دنیا از جمله ایران می‌باشند (۴و ۵). انتروکوک ها اساساً از طریق دست‌های پرسنل بیمارستانی و

نیز برخی از بیماران که ممکن است این میکروارگانیسمها را در دستگاه گوارش خود حمل کنند به بیماران دیگر منتقل می‌شوند و گاهی اوقات از طریق وسایل پزشکی آلوده نیز منتقل می‌گردند. در بیماران شایعترین محل عفونت دستگاه ادراری، زخم‌ها، مجاری صفراوی و خون می‌باشند (۶ و ۷).

مشکل اصلی در ارتباط با انتروکوک ها این است که آنها می‌توانند نسبت به آنتی بیوتیکها بسیار مقاوم باشند. مقاومت این میکروارگانیسمها در مقابل اولین خط درمانی انتخابی (آمینو پنیسیلینها / آمینوگلیکوزیدها) نیاز به درمان جایگزین با گلیکوپپتیدها از جمله وانکومایسین یا تئی کوپلانین را آشکار می‌سازد (۸). از اواخر دهه ۱۹۸۰ مقاومت به این آنتیبیوتیک‌ها نیز ایجاد شده و از این رو به نام سویه های مقاوم به ونکومایسین نامیده شدند (Vancomycin Resistant Enterococcus = VRE). انتروکوک ها به عنوان مخزنی از ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی، تمایل به انتقال این ژن ها به سایر باکتری ها داشته که در میان آنها استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (Methicillin Resistant Staphylococcus aureus=MRSA) در اولویت می باشد (۹). در برخی موارد پلاسمیدهایی با دسته های ژنی مختلف مقاومت به ونکومایسین از انتروکوک ها جدا شده است (۱۰). نشان دادن مقاومت آنتی بیوتیکی در انتروکوک های ایزوله شده از نمونه بالینی ابزار ارزشمندی است که اطلاعات سودمندی درباره شیوع VRE به ما می دهد و این مسئله جهت کنترل شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی ضروری است. در این مطالعه در راستای این هدف، پراکندگی و الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی بر روی نمونه‌های بالینی جدا شده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

در این پژوهش ۵۲ ایزوله انتروکوک جدا شده از میان نمونه های ارسالی به پنج آزمایشگاه میکروب شناسی بالینی مراکز بهداشتی و درمانی تهران در سال تحصیلی ۱۳۸۱-۱۳۸۰ مورد بررسی قرار گرفتند. این ۵۲ ایزوله از میان ۷۴ ایزوله دریافت شده به عنوان گونه های انتروکوک، با استفاده از رنگ آمیزی گرم، آزمایشات کاتالاز، بایل اسکولین آگار، مقاومت به دیسک های اپتوشین، باسیتراسین، رشد در غلظت ۶/۵ درصد کلرید سدیم در حرارت ۴۵ درجه سانتیگراد در حد جنس شناسایی شدند. سپس سویه ها با استفاده از آزمایشهای تولید اسید از قندهای گوناگون و روش های بیوشیمیایی برگرفته از منابع معتبر در حد گونه شناسایی گردیدند (۱۱).

حساسیت به عوامل ضد میکروبی با استفاده از روش دیسک آگاردیفیوژن مطابق با استانداردهای CLSI انجام گرفت (۱۲،۱۳). دیسک‌های آنتی بیوتیک شامل اگزاسیلین (1µg)، پنی سیلین(۱۰units) ، استرپتومایسین (۱۰ µg)، جنتامایسین (۱۰ µg)، اریترومایسین (۱۵ µg)، آمپی سیلین(۱۰ µg)، تری متوپریم- سولفا متاکسازول(۲۳،۷۵/۱،۲۵ µg)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ µg)، داکسی سایکلین (۳۰ µg)، نیتروفورانتئین (۳۰۰µg) و وانکومایسین (۳۰µg) (BBL) مورد استفاده قرار گرفتند. تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) به وسیله روش ماکرو دایلوشن براث و با استفاده از محیط کشت Cation Adjustmented Muller Hinton Broth (CAMHB) مطابق با استاندارد CLSI انجام گرفت (۱۴). نتایج نهایی آزمون های تعیین حساسیت پس از ۴۸-۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در ۳۷ درجه سانتیگراد مورد بررسی قرار گرفتند. سویه های کنترل که در این آزمون ها مورد استفاده قرار گرفتند: استافیلوکوکوس اورئوس ATTC 29213 و انتروکوکوس فیکالیس ATCC 29212 بودند. MIC کمتر از ۴ µg/ml به عنوان سویه های حساس به وانکومایسین محسوب گردیدند (۱۴).

استخراج DNA پلاسمیدی از ۱۶ ایزوله انتروکوک جدا شده انجام پذیرفت (شامل ۲ نمونه VRE). روش به کار رفته شده مطابق منابع معتبر می باشد (۱۵). به طور خلاصه ابتدا سویه های انتروکوک بر روی محیط کشت BHI agar همراه با خون دفیبرینه گوسفند به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد کشت داده شدند. با استفاده از دو یا سه کلنی از هر کشت در 100 µl از محلول شماره ۱ (TE بافر حاوی ۲۵ درصد سوکروز و۱۰ میلی گرم در میلی لیتر لیزوزیم) سوسپانسیونی تهیه گردید. مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از محلول شماره ۲ (هیدروکسید سدیم ۰/۲ مولار در سدیم دودسیل سولفات ۰/۱ درصد در آب مقطر) به آن اضافه شده و به مدت یک ساعت در حرارت ۵۶ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری صورت گرفت. سپس ۱۵۰ میکرولیتر از محلول شماره ۳ (پتاسیم استات ۳ مولار با pH: 4.8) به آن افزوده شد به مدت ۱۵ دقیقه در دور بالا سانتریفیوژ گردید. محلول روئی از خلال صافی خالص سازی گردید. در مرحله بعد ۴۰۰ میکرولیتر ترکیب فنل کلروفرم، ایزو آمیل الکل به آن افزوده شد. ۲۰۰ میکرولیتر از محلول روئی برداشته با ۴۰۰ میکرولیتر اتانول سرد مخلوط گردید. نهایتاً ۲۲ میکرولیتر آب مقطر استریل دیونیزه به رسوب باقی مانده در لوله میکرو سانتریفیوژ اضافه شد و پس از الکتروفورز روی ژل آگاروز ۰/۸ درصد و رنگ آمیزی توسط اتیدیوم بروماید درصد باندهای DNA پلاسمیدی با استفاده از دستگاه نمایانگر UV Transilluminator مشاهده و بررسی گردید. اندازه پلاسمیدهای جدا شده پس از مقایسه با نشانگرهای با اندازه 20000 -250 و 23130 -564 جفت باز، بررسی گردید.

یافته ها

از میان ۵۲ ایزوله جمع آوری شده، ۳۶ ایزوله (۶۹/۲ درصد) از ادرار، ۵ ایزوله (۹/۶ درصد) از مایع آسیت، ۴ ایزوله (۷/۷ درصد) از زخم، ۴ ایزوله (۷/۷ درصد) از ترشحات واژن، ۲ ایزوله (۳/۹ درصد) از خون و تنها یک ایزوله (۱/۹ درصد) از مغز استخوان بودند.

تمام ایزوله ها کوکسی گرم مثبت با زنجیره کوتاه بوده و همگی در روی محیط کشت بایل اسکولین رشد و آنرا سیاه نمودند. همچنین در حضور ۶/۵ درصد کلرید سدیم در حرارت ۴۵ درجه سانتیگراد رشد کردند؛ همگی کاتالاز منفی بوده و اکثریت (۹۲/۳ درصد) آنها به عنوان گونه انتروکوکوس فیکالیس تعیین هویت گردیدند. ایزوله های جدا شده دیگر، ۴ ایزوله (۷/۷ درصد) انتروکوکوس فیسیوم بودند.

نتایج تست حساسیت برای ایزوله های آزمایش شده با روش دیسک دیفیوژن در جدول ۱ آورده شده است. از میان جدا شده ها یک ایزوله (۱/۹٪) مقاوم و سویه دیگر (۱/۹ درصد) با مقاومت حد واسط نسبت به وانکومیسین، ارزیابی گردید. در حالی‌که این دو ایزوله انتروکوکوس (۳/۸۶٪) با MIC به میزان 8µg/ml ≤ به عنوان مقاوم به وانکومیسین محسوب گردیدند، جدا شده های دیگر با MIC برابر با 1 µg/ml (۵ ایزوله ۹/۶۷٪)، 2 µg/ml (۲۵ ایزوله ۴۸/۷٪) و 4 µg/ml (۲۰ ایزوله ۳۸/۴۶٪) به عنوان حساس نسبت به ونکومیسین در نظر گرفته شدند.

مقاومت چند گانه (Multi drug resistant) در تمامی سویه های جدا شده مشاهده گردید به طوری‌که در ۲ ایزوله جدا شده مقاومت به ۹ آنتی بیوتیک از ۱۰ آنتی بیوتیک مورد بررسی دیده شد (جدول ۲). این دو ایزوله مقاوم به وانکومیسین از نمونه های ادراری جداسازی گردیده و هر دو به عنوان گونه انتروکوکوس فیکالیس تعیین هویت شدند.

در مجموع، از میان ۵۲ ایزوله انتروکوک جدا شده، ۱۶ ایزوله با MICs تعیین شده نسبت به ونکومایسین شامل ۲ ایزوله مقاوم به ونکومایسین (MIC= 8µg/ml) و همچنین دیگر ایزوله های حساس به ونکومایسین که MICs آنها شامل 1µg/ml، 2µg/ml و 4µg/ml بودند جهت استخراج DNA پلاسمیدی انتخاب شدند. باند پلاسمیدی تنها در ۲ ایزوله VRE جدا شده مشاهده گردید. اندازه پلاسمیدهای بدست آمده در یک ایزوله VRE (MIC= 8µg/ml) حدود ۴/۵ kb و ۱۷/۲، ۲۳/۵ محاسبه گردید و ایزوله دیگر VRE (MIC=8µg/ml) تنها حامل پلاسمیدی با اندازه kb۴/۵ بود (اشکال شماره۱ و ۲).

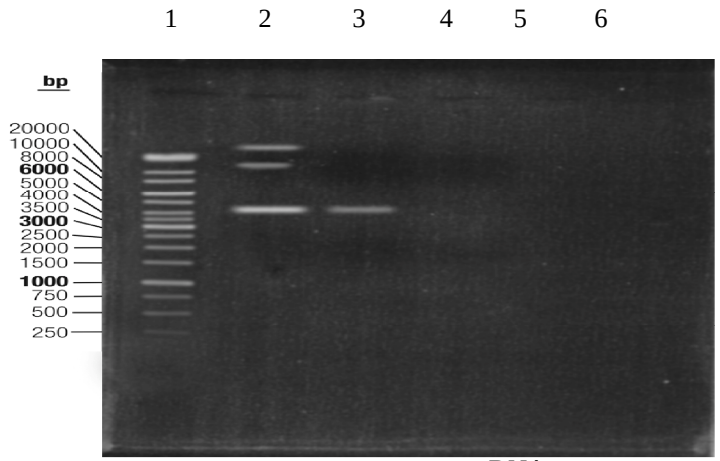
جدول ۱: الگوی مقاومت ایزوله های انتروکوکوس جدا شده نسبت به آنتی بیوتیکهای رایج به روش دیسک دیفیوژن

نام آنتی بیوتیک	مقاوم تعداد (درصد)	حدواسط تعداد (درصد)	حساس تعداد (درصد)
اگزاسیلین	۵۲ (۱۰۰)	–	–
وانکومایسین	۱ (۱/۹)	۱(۱/۹)	۵۰ (۹۶/۲)
پنی سیلین	۵۱(۹۸/۱)	–	۱ (۱/۹)
آمپی سیلین	۳۰ (۵۷/۷)	–	۲۲ (۴۲/۳)
کوتریماکسازول	۴۹ (۹۴/۲)	–	۳ (۵/۸)
نیتروفورانتوئین	۱۸ (۳۴/۶)	۲۲ (۴۲/۳)	۱۲ (۲۳/۱)
جنتامایسین	۳۶ (۶۹/۲)	۶ (۱۱/۶)	۱۰ (۱۹/۲)
نالیدیکسیک اسید	۵۲ (۱۰۰)	–	–
داکسی سایکلین	۴۴ (۸۴/۶)	–	۸ (۱۵/۴)
اریترومایسین	۲۹ (۵۵/۸)	۲۳ (۴۴/۲)	–

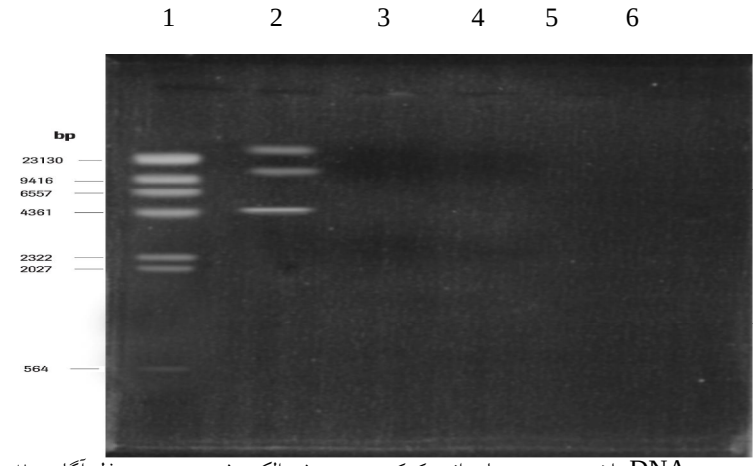
جدول ۲ : توزیع فراوانی مقاومت چندگانه در ایزوله‌های انتروکوکوس

الگوی مقاومت آنتی بیوتیک	درصد	تعداد
P-AM-S-SXT-NF-GM-NA-D -E	۱/۹۲	۱
VA-P-S-SXT-NF-GM-NA-D-E	۱/۹۲	۱
P-AM-S-SXT-NF- GM-NA-D	۹/٦۲	۵
P-AM-S-SXT- GM-NA-D-E	۱۳/٤٦	۷
P-S-SXT-NF-GM-NA-D-E	۵/۷۷	۳
P-AM-S-FD- GM-NA-D-E	۱/۹۲	۱
P-AM-S-SXT- GM-NA-D	۷/٦۹	٤
P-S-SXT-NF-GM-NA-D	۱/۹۲	۱
P-S-SXT- GM-NA-D-E	۹/٦۲	۵
P-S-SXT-NF- NA-D-E	۱/۹۲	۱
P-AM-S-SXT- NA-D-E	۱/۹۲	۱
E–P-S-SXT-NF-GM- NA	۱/۹۲	۱
P-AM-S-SXT- NF-NA- E	۳/۸۵	۲
P-AM-S-SXT- GM-NA-E	۵/۷۷	۳
P- S-SXT-NA-D-E	۱/۹۲	۱
P-AM- S-SXT-NA-D	۳/۸۵	۲
P- S-SXT-NF-NA-D	۱/۹۲	۱
P- S-SXT-GM-NA-D	۵/۷۷	۳
P- S-SXT-GM-NA-E	۱/۹۲	۱
AM-S-SXT-NA-D-E	۱/۹۲	۱
P- S-SXT- NA-D	۵	۹/٦۲
P- S-NF- NA-E	۱/۹۲	۱
P- S- NA-D	۱/۹۲	۱
جمع کل	۱۰۰	۵۲

P= penicillin, AM= amoxicillin, OX= oxacillin, S= streptomycin SXT= trimethoprim- sulfamethoxazole, NF= nitofurantoin,GM=gentamicin,NA= nalidixic acid,E= erythromycin VA= vancomycin, D= doxicyclin



شکل ۱: بررسی DNA پلاسمید ایزوله های انتروکوکوس به روش الکتروفورز بر روی ژل آگاروز۰/۸ درصد. ستون ۱: نشانگر مولکولی، ستون های ۲ تا ۶; سویه های انتروکوکوس جداشده (ستونهای ۲ و ۳ حاوی باندهای پلاسمیدی)



شکل ۲: بررسی DNA پلاسمید سویه های انتروکوکوس به روش الکتروفورز بر روی ژل آگاروز۰/۸ درصد.
ستون ۱: نشانگر مولکولی، نوار ۲ تا ۶؛ سویه های انتروکوکوس جداشده (ستون ۲ حاوی باندهای پلاسمیدی)

بحث

مقاومت آنتی بیوتیکی به علت استفاده گسترده از مواد ضد میکروبی در حال افزایش است و انتشار این باکتری های مقاوم در میان جمعیت به سادگی صورت می پذیرد. ظهور مقاومت بالا و قابل انتقال نسبت به گلیکوپپتیدها در انتروکوک‌ها تولید سویه هایی نموده که به تمام آنتی بیوتیک‌های در دسترس مقاوم می‌باشند (۷). به علت محدودیت در انتخاب آنتی بیوتیک مناسب جهت درمان و فقدان اطلاعات کافی، مرگ و میر ناشی از عفونت های انتروکوکال در حال افزایش می باشد. لذا مطالعات تکمیلی در ارتباط با الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های انتروکوکسی جدا شده جهت کنترل انتشار این باکتری های مقاوم بسیار ضروری بنظر می رسد.

همانطور که انتظار می‌رفت بیشترین تعداد سویه های جداشده در این تحقیق انتروکوکوس فیکالیس (۹۲/۳ درصد) بود و سایر سویه های جدا شده انتروکوکوس فیسیوم (۷/۷ درصد) تعیین گردید. این نتایج با سایر مطالعات انجام گرفته در ایران و سایر کشورها مطابقت دارد (۴، ۱۶-۲۰). بیشترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی مربوط به پنی سیلین، اگزاسیلین و داکسی سایکلین و کمترین مربوط به ونکومایسین بود(جدول ۱) که این یافته ها با نتایج بدست آمده توسط رمضانی و همکاران در بررسی انجام گرفته در تهران مطابقت دارد (۷). میزان مقاومت به آمپی سیلین در سویه های انتروکوک جدا شده در این مطالعه (۵۷/۷ درصد) با میزان مقاومت به آمپی سیلین در بررسی مشابهی که در کشور ایرلند صورت پذیرفته (۵۱ درصد) مطابقت دارد (۲۱) گرچه میزان مقاومت به آمپی سیلین در سایر مطالعات صورت گرفته در هندوستان (۶۶ درصد) و بیمارستانهای تهران (۶۷ درصد) بالاتر از مطالعه حاضر می باشد (۷و ۲۲).

مقاومت به دوزهای بالای آمینوگلیکوزیدها یکی از مشکلات اساسی در درمان عفونت های انتروکوکال می‌باشد. در بررسی انجام شده در ایرلند مقاومت به جنتامایسین ۶۰ درصد گزارش گردیده (۲۱) و نیز بررسی انجام شده توسط رمضانی و همکاران این میزان ۴۰ درصد گزارش شده است (۷). شیوع مقاومت به آنتی بیوتیک جنتامایسین در مطالعه حاضر (جدول ۱) در مقایسه با مطالعه فوق از میزان بالاتری برخوردار می باشد اما با بررسی های انجام شده بر روی ۱۰۰ سویه انتروکوک جدا شده از بیماران بیمارستانهای تهران توسط رمضانی و همکاران (۶۹/۲ درصد) کاملاً همخوانی دارد (۷).

در این تحقیق میزان مقاومت سویه های انتروکوک نسبت به آنتی بیوتیک پنی سیلین ۹۸/۱ درصد بدست آمد (جدول ۱). در مطالعه صورت گرفته توسط لاوری و همکاران در ایرلند تمامی سویه های انتروکوک جدا شده نسبت به پنی سیلین مقاومت نشان دادند (۲۱). در مطالعات رمضانی و همکاران در بیمارستانهای تهران میزان مقاومت سویه های انتروکوک به پنی سیلین ۹۷/۴ درصد گزارش گردیده که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (۷). در این بررسی ۵۵/۸ درصد سویه ها به آنتی بیوتیک اریترومایسین مقاومت نشان دادند (جدول ۱) که این میزان کمتر از میزان گزارش شده در هندوستان (۸۵ درصد) ولی نزدیک به یافته های بدست آمده توسط Zouain در لبنان (۵۹ درصد) می باشد (۲۲و ۲۳).

مقاومت به ونکومایسین در این بررسی تنها در ۲ سویه انتروکوکوس فیکالیس مشاهده گردید (۳/۸ درصد) که این

سویه ها از نمونه های کاتتر ادراری جداسازی شد. این نتایج با درصد سویه های مقاوم به گلیکوپپتید ونکومایسین در یونان(۲۴) و سایر کشورهای اروپا(۱۷) و نیز کانادا(۲۵) مطابقت دارد اما کمتر از میزان گزارش شده در ترکیه می باشد (۲۶). نتایج بدست آمده در این تحقیق با نتایج سایر بررسی های انجام شده در ایران توسط فیض آبادی و همکاران در تهران (۷ درصد) و اسدیان در شیراز (۶/۹ درصد) نشانگر افزایش در کلونیزاسیون و شیوع VRE می باشد (۴و ۱۸). دستیابی به این دو سویه مقاوم به ونکومایسین که به عنوان انتروکوکوس فیکالیس تعیین هویت گردیدند در تضاد چشمگیر با نتایج سایر مطالعات در خاورمیانه، مکانی که تمامی سویه های انتروکوک مقاوم به ونکومایسین به عنوان انتوکوکوس فیسیوم تعیین هویت گردیده می باشند (۲۷) اما با گزارشات ارائه شده توسط Peset و همکاران در اسپانیا (۲۷) و نیز Sofianou و همکاران در یونان (۲۴) مطابقت دارد. البته دسترسی به نتایج دقیق تر با انجام بررسی های گسترده تر روی تعداد قابل ملاحظه سویه های انتروکوک مقاوم به ونکومایسین جهت بررسی فراوانی وجود گونه های انتروکوکوس فیکالیس و انتروکوکوس فیسیوم و سایر گونه های مقاوم به ونکومایسین ضرورت دارد.

انتروکوک ها با یک روند رو به افزایش دارای مقاومت نسبی به طیف وسیعی از عوامل ضد میکروبی شده اند (۲۸). از زمانی که سویه های مقاوم به ونکومایسین در دنیا انتشار یافته است بروز مقاومت چند گانه و همزمان به اکثریت آنتی بیوتیک ها مشاهده گردیده است (۱۷) که نتیجه آن ایجاد سویه های انتروکوک دارای مقاومت چندگانه می باشد (۲۹) که همین مسئله درمان عفونت های ناشی از VRE را بسیار مشکل تر می‌سازد.

در بررسی های گوناگون انجام شده در نقاط مختلف وجود مقاومت همزمان به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین- اگزاسیلین، داکسی سیلین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، کوتریماکسازول، نالیدیکسیک اسید و نیز ونکومایسین نشان دهنده این مطلب است که سویه های انتروکوک دارای مقاومت چند گانه (Multi Drug Resistant) شیوع جهانی دارند (۴، ۲۳، ۳۰و۳۱). در تحقیق حاضر نیز تمامی سویه های انتروکوکوس جدا شده دارای مقاومت چند گانه بوده (جدول ۲) که در مقایسه با مطالعات انجام شده در سایر مناطق گرچه نشانگر وجود درصد یکسان چند مقاومتی بوده ولی در نوع آنتی بیوتیک هایی که سویه های جدا شده نسبت به آنها مقاومت نشان می دهند با یکدیگر تفاوت دارند که این امر می تواند ناشی از تفاوت در الگوی مصرف آنتی بیوتیکی در این منطقه با سایر نقاط جهان باشد.

مطالعات مولکولی نشان داد که تنها ۲ سویه VRE جداسازی شده دارای DNA پلاسمید بودند که احتمالا نشان دهنده این مطلب است که مقاومت به ونکومایسین در این دو سویه می‌تواند ناشی از وجود پلاسمید حاوی ژن مقاومت باشد چرا که در سویه های حساس به ونکومایسین این چنین پلاسمید هائی مشاهده نگردید (شکل های ۱و۲). اولین سویه VRE جداسازی شده حاوی باندهای پلاسمیدی با اندازه های ۴/۵، ۱۷/۲ و ۲۳/۵ کیلو جفت باز در حالیکه دیگر سویه VRE جداسازی شده حاوی تنها یک باند پلاسمیدی به اندازه ۴/۵ کیلو جفت باز می باشد. نتایج حاصل با نتایج بدست آمده توسط Heaton و همکاران که باندهای ۵/۲ و ۲۲ کیلو جفت باز در کشور آمریکا گزارش نموده اند، مطابقت دارد (۳۲). در نهایت شیوع مقاومت ۳/۸۶٪ درصدی به ونکومایسین در این مطالعه می تواند نشانگر یک تهدید جدی باشد که برنامه ریزی های نظارتی دقیق و انجام مطالعات ژنتیکی بیشتر به کمک روش های مولکولی را در مورد درمان عفونت های انتروکوکال می طلبد.

References:

1. Lu JJ, Lee SY, Perng CL. Proficiency of determination of vancomycin susceptibility in enterococci by clinical laboratories in Taiwan. *J Microbial Immun Infect* 2004; **37:** 242-245.
2. Vonberg RP, Chaberny IF, Kola A, Klare I, Werner G, Weist K, Wendt C, Gastmeier P. Prevention and control of the spread of vancomycin resistant enterococci: Results of a workshop held by the German society for hygiene and microbiology. *Anaesthesis* 2006; **56:** 51-157.
3. Bell JM., Paton JC, Tunidge J. Emergence of vancomycin-resistant enterococci in Australia: phenotypic and genotypic characteristics of isolates. *J Clin Microbiol* 1998; **36:** 2187-2190.
4. Feizabadi MM, Asadi S, Alimohammadi A, Parvin M, Parastan R, Shayegh MS, Etemadi G. Drug resistant patterns of enterococci recovered from patients in Tehran during 2000-2003. *Int J Antimicrob Ag* 2004; **24:** 521-522.
5. Vilela MA, Souza SL, Palazzo IC, Ferreira JC, Morais MA, Darini AL, Morais MM. Identification and molecular characterization of Van A-type vancomycin-resistant Enterococcus faecalis in northeast of Brazil. *Mem I Oswaldo Cruz* 2006; **101:** 715-719.
6. Brooks JF, Butel JS, Morse SA. *Jawetz, Melnick and Adelberg's medical microbiology*. 22nd ed. USA, McGraw Hill, 2002; PP: 213-217.

7. Ramazani A, Mohrez M, Asadi S, Nazgoei F, Islamifar A. [Investigation of hospital infections caused by enteroccoci in Tehran hospitals]. *J Trop Infect Dis* 2002; **7**(19): 11-15. (Persian)
8. Balzereit-Scheuerlein F, Stephan F. Prevalence of colonization and resistance patterns of vancomycin-resistant enterococci in healthy, non hospitalized persons in Switzerland. *Swiss Med Wkly* 2001; **131:** 280-382.
9. Kaszanyitzky EJ, Tenk M, Ghidan A, Fehevari GY, Papp M. Antimicrobial susceptibility of enterococci strains isolated from slaughter animals on the data of Hungarian resistance monitoring system from 2001 to 2004. *Int J Food Microbiol* 2007; **115:** 119-123.
10. Moritz EM, Hergenrother PJ. Toxin-antitoxin systems are ubiquitous and plasmid-encoded in vancomycin-resistant enterococci. *Proceeding of the National Academmy of Sciences of the United Staes of America* 2007; **104:** 311-316.
11. Murray PA, Rosenthal KE, Kobayashi GE, Pfaller MI. *Medical microbiology*, 3rd ed . USA, Mosby, 1997; PP: 206–208.
12. Baron EL, Finegold SY. *Bailey & Scott's diagnostic Microbiology*, 8th ed. USA, Mosby, 1990; PP: 171–85.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard, 9th ed. Wayne,Clinical and Laboratory Standards Institute, , 2006; PP: 2-9.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute.Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard, 7th ed. Wayne, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006; PP: M7-A7.
15. Woodfard NE, Johnson AL. Plasmid analysis. In: Woodford NE, Johnson AL. *Molecular bacteriology, protocols and clinical applications*. 1st ed. Totowa, Humana, 1998; PP: 51–62.
16. Mittal N, Gupa N, Rawat D, Kaur R, Kumar S, Mathur MD. Characterization of enterococcus species. In: *Indian medical microbiologists*. India, Institute of Medical Sciences Press, 2001; PP: 86.
17. Schouten MA, Hoogkamp– Korstaje JA, Meis JF, Voss A. Prevalence of vancomycin resistant enterococci in Europe. *Eur J Clin Microbiol* 2000; **19:** 816–822.
18. Assadian O, Askarian M, Stadler M, Shaghaghian S. Prevalence of vancomycin- resistant enterococci colonization and its risk factors in chronic hemodialysis patients in Shiraz, Iran. *BMC Infect Dis* 2007; **7**: 52.
19. Mamishi S, Pourakbari B, Ashtiani MH, Hashemi FB. Frequency of isolation and antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from bloodstream infections at Children's Medical Center, Tehran, Iran, 1996-2000. *Int J Antimicrob Ag* 2005; **26:** 373-379.
20. Goodarzi H, Rajabiani A, Farahsh H, Sadeghi garmaroodi F. [Isolation of Gram positive ,catalase negative cocci resistant to vancomycin from clinical specimens]. 9th Iranian congress on infectious disease and tropical medicine. 2000; PP: 67. (Persian)
21. Lavery A, Rossney AS, Morrison D, Power A, Keane CT. Incidence and detection of multidrug resistant enterococci in Dublin hospitals. *J Med Microbiol* 1997; **46:** 150–156.
22. Mathur P, Kapli A, Chandra R, Shrma P, Das B. Antimicrobial resistance in Enterococcus faecalis at a tertiary care centre of northern India. *Indian J Med Res* 2003; **118:** 25-28.
23. Zouain MG, Araj GF. Antimicrobial resistance of Enterococci in Lebanon. *Int J Antimicrob Ag* 2001; **17:** 209-213.
24. Sofianou D, Pournaras S, Giosi M, Polyzou A, Maniatis AN, Tsakris A. Substantially increased faecal carriage of vancomycin- resistant enterococci in tertiary Greek hospital after a 4 year time interval. *J Antimicrob Chemoth* 2004; **54:** 251-254.
25. Armstrong– Evans MA, Litt MA, McArthur MA, Willey BA, Cann DA. Control of transmission of Vancomycin – resistant Enterococcus faecium in a long term care facility. *Infect Cont Hosp Ep* 1999; **20:** 312–317.
26. Kacmaz B, Aksoy A. Antimicrobial resistance of enterococci in Turkey. *Int J Antimicrobial Agents* 2005; **25**(6): 535-538.
27. Fatholahzadeh B, Hashemi F, Emaneini M. Prevalence of Vancomycin Resistant Entrococci. *Daru* 2006; **14:** 141-145.
28. Peset V, Tallon P, Sola C, Sanchez E, Sarrion A, Perez– Belles C, Vindel A. Epidemiological, microbiological, clinical and prognostic factors of bacteremia caused by high level vancomycin resistant enterococcus species. *Eur J Clin Microbiol* 2000; **19:** 742–749.
29. Robert C, Moellering JR. Enterococcal Resistance. *Clinical Updates Infect Dis* 1998; **4 :** 1-6.
30. Chugh TD. Antibiotic resistance of Enterococcus in Kuwait. In: *Indian medical microbiologists*. India, Institute of medical sciences press, 2001; PP: 77.
31. Taylor SE, Paterson DL. Treatment options for chronic prostatitis due to vancomycin – resistant Enterococcus faecium. *Eur J clin Microbiol Infect Dis* 1998; **17:** 798 – 800.
32. Heaton MI, Discotto LI, Pucci MI, Handwerge SA. Mobilization of vancomycin resistance by transposon mediated fusion of a Van A plasmid with an Enterococcus faecium sex pheromone–response plasmid. *Gene* 1996; **171:** 9–17.