

بررسی فراوانی و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های انتروکوک جدا شده از بیمارستان‌های دولتی شهر زنجان

دکتر مریم حسن^۱، حسین جهانگیری^۲، دکتر کوروش کمالی^۳، دکتر زویا هژبری^۴

mhassan@zums.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤل: زنجان، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دارویی

دریافت: ۹۴/۱/۲۰ پذیرش: ۹۴/۴/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: انتروکوک‌ها مشکلات فراوانی را از لحاظ عدم موفقیت در درمان و ایجاد مرگ و میر در بیماران به وجود می‌آورند که این امر، بیشتر به دلیل مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها می‌باشد. از آن جایی که شناسایی مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی شایع در جامعه از اهمیت خاصی برای درمان عفونت‌ها برخوردار است و می‌تواند در جلوگیری از شکست درمان مفید باشد، لذا این تحقیق با هدف غربالگری نمونه‌های به دست آمده از بیماران از نظر انتروکوکوس‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک صورت پذیرفت.

روش بررسی: نمونه‌های مورد استفاده طی یک دوره‌ی زمانی ۹ ماهه از خون و مدفوع بیماران بستری در بیمارستان‌های موسوی و ولیعصر زنجان از مرداد ۹۲ تا اردیبهشت ۹۳ جمع‌آوری شدند. با کمک تست‌های تشخیصی رشد در محیط بایل اسکولین آگار و محیط NaCl ۶/۵ درصد و تست کاتالاز و رنگ‌آمیزی گرم صحت نمونه‌ها تایید شد. روش انتشار از دیسک در آگار برای تست حساسیت به آنتی‌بیوتیک با محیط کشت مولر هینتون آگار و روش میکروتیتزر پلیت برای ارزیابی MIC نمونه‌های مقاوم به ونکومايسين انجام شد.

یافته‌ها: در تحقیق حاضر از میان آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی، تیکوپلانتین و ونکومايسين کمترین میزان مقاومت (۲ درصد) و سیپروفلوکساسین بیشترین میزان مقاومت (۷۰ درصد) را به خود اختصاص دادند و حداقل غلظت مهارکنندگی در مورد ونکومايسين ۵ تا ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین شد.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان می‌دهد انتروکوک‌های ایزوله شده از بیماران بستری در بیمارستان مقاومت نسبتاً بالا به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها داشته ولی در مورد ونکومايسين و تیکوپلانتین مقاومت نسبت به مطالعات مشابه در سطح قابل قبولی قرار دارد.

واژگان کلیدی: انتروکوک، حساسیت آنتی‌بیوتیکی، زنجان، MIC

مقدمه

انسان و حیوان زندگی می‌کنند ولی در خاک، آب، محصولات لبنی و دیگر مواد غذایی و گیاهی نیز یافت می‌شوند (۱).	انتروکوکوس‌ها، کوکسی‌های گرم مثبت بی‌هوازی اختیاری می‌باشند که می‌توانند تحت شرایط سخت زنده بمانند. این میکروارگانیسم‌ها به‌طور عمده در سطوح مخاطی
حدود ۱۲ گونه انتروکوکوس وجود دارد. انتروکوکوس	

۱- دکترای تخصصی داروسازی، استادیار مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۲- دانشجوی دکترای داروسازی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۳- دکترای تخصصی اپیدمیولوژی، استادیار دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۴- دکترای تخصصی میکروپوشش‌شناسی، استادیار دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان

عفونت‌ها با ظهور باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بسیار مشکل گردیده است (۶). باکتری‌های مقاوم مخصوصاً استافیلوکوک‌ها و انتروکوکوس‌ها در مراکز بهداشتی ساکن می‌باشند و مقاومت بالای آنتی‌بیوتیکی در آن‌ها، در اکثر مواقع منجر به شکست درمان شده و بعضی از بیماران دچار عواقب خطرناکی می‌شوند (۷).

هدف از انجام این مطالعه غربالگری نمونه‌های به‌دست آمده از بیماران از نظر انتروکوکوس‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در شهر زنجان می‌باشد که می‌تواند نشان دهنده‌ی میزان و فرهنگ مصرف دارو در یک منطقه یا عدم رعایت مدت درمان و تجویز دوز مناسب دارو باشد.

روش بررسی

جمع‌آوری نمونه‌ها: این مطالعه با گرفتن نمونه خون و مدفوع از بیماران بستری در بیمارستان ولیعصر و آیت الله موسوی زنجان آغاز شد. در مدت ۹ ماه (از مرداد ۱۳۹۲ تا اردیبهشت ۱۳۹۳)، ۸۰ سویه انتروکوکوس از نمونه‌های ارجاع داده شده به آزمایشگاه‌های بیمارستان‌های ولیعصر و آیت الله موسوی ایزوله گردید.

تعیین هویت انتروکوکوس‌های ایزوله شده در بیمارستان: نمونه‌های ایزوله شده در بیمارستان‌های ولیعصر و آیت الله موسوی برای شناسایی مجدد در محیط کشت انتخابی بایل اسکولین سدیم آزاید تلقیح شدند. پلیت‌ها و فالكون‌های تلقیح شده در شرایط هوازی و دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت انکوبه شدند. پس از اتمام زمان انکوباسیون، فالكون‌های بایل اسکولین مثبت (سیاه رنگ) بر روی پلیت‌های حاوی بایل اسکولین آگار دار ساب کالچر شدند. (۸) در نهایت کلنی‌های با هاله سیاه رنگ در اطراف کلنی از هر پلیت، با انجام آزمون‌های شناسایی انتروکوکوس‌ها مثل رنگ آمیزی گرم، واکنش کاتالاز، رشد در NaCl ۶/۵ درصد و فعالیت آنزیم

فکالیس (*E. faecalis*) شایع‌ترین گونه بوده و عامل ۸۵ تا ۹۰ درصد عفونت‌های انتروکوکوی است و انتروکوکوس فاسیوم (*E. faecium*) عامل ۵ تا ۱۰ درصد عفونت‌ها می‌باشد (۲). این میکروارگانیسم‌ها بر خلاف ویرولانسی ضعیف‌شان، به‌عنوان پاتوژن‌های فرصت طلب به‌ویژه در بیماران مسن با بیماری‌های زمینه‌ای و دیگر بیماران با نقص ایمنی، از عوامل اصلی عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شوند. مقاومت به طیف وسیعی از عوامل ضد میکروبی به‌عنوان یک ویژگی قابل توجه گونه‌های انتروکوکوس محسوب می‌شود که به صورت ذاتی یا اکتسابی می‌باشد. یکی از دلایل اصلی حیات این باکتری در محیط‌های بیمارستانی، مقاومت ذاتی این میکروارگانیسم به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های مورد مصرف به‌وسیله‌ی موتاسیون و یا دریافت ماده‌ی ژنتیکی خارجی از طریق انتقال پلاسمید یا ترانسپوزون‌ها می‌باشد (۳). این میکروارگانیسم‌ها خصوصاً انتروکوک فاسیوم مقاومت در حال افزایشی را به بسیاری از عوامل ضد میکروبی از جمله پنی‌سیلین‌ها، آمینوگلیکوزیدها و گلیکوپپتیدها نشان می‌دهد. مقاومت کامل و یا نسبی به بتالاکتام‌ها یک ویژگی شناخته شده برای جنس انتروکوکوس می‌باشد. مکانیسم اصلی این مقاومت، تولید بیش از حد پروتئین‌های متصل شونده به پنی‌سیلین به نام Penicillin Binding Proteins (PBPS) به‌خصوص PBP5 با میل ترکیبی پایین به پنی‌سیلین می‌باشد. مقاومت به آمینوگلیکوزیدها، به دلیل وجود آنزیم‌های استیل ترانسفراز و آمینوگلیکوزید فسفوترانسفراز می‌باشد. این آنزیم، مقاومت سطح بالایی به جتتامایسین و آمینوگلیکوزیدهای دیگر غیر از استرپتومایسین را القا می‌کند (۴). مقاومت نسبت به ونکومایسین در انتروکوک از اهمیت بالایی برخوردار است و در سال‌های اخیر شیوع این نوع مقاومت رو به افزایش است. ژن عامل مقاومت بر روی پلاسمید Tn 1546 قرار دارد و قابل انتقال می‌باشد (۵). امروزه مقاومت آنتی‌بیوتیکی در نزد پزشکان از اهمیت قابل توجهی برخوردار است زیرا درمان

پیرولیدونیل آریل آمیداز (PVR) شناسایی شدند (۸).
تعیین حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی: ارزیابی حساسیت ضد میکروبی روی نمونه‌های ایتروکوکوس ایزوله شده با تهیه سوسپانسیون میکروبی با کدورت استاندارد نیم مک فارلند (Optical Density خوانده شده بین ۰/۰۸ تا ۰/۱۳) مطابق روش انتشار از دیسک (Disk Diffusion) و با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک شرکت HIMEDIA در محیط کشت Muller Hinton Agar انجام شد (۷ و ۸).
 دیسک‌های استاندارد مورد استفاده شامل آنتی‌بیوتیک‌های ونکومايسين (۳۰ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، نیتروفورانتس‌وین (۳۰۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۲۰ میکروگرم)، اریترومايسين (۱۵ میکروگرم)، استرپتومايسين (۳۰۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم) و تیکوپلانیل (۳۰ میکروگرم) روی محیط کشت قرار گرفت و این مجموعه در انکوباتور با دمای مناسب (۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد) گذاشته شد و بعد از گذشت مدت زمان لازم برای رشد میکروارگانیسم‌ها (حدود ۲۴ ساعت) میزان قطر هاله‌ی عدم رشد توسط خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد (۹ و ۱۰).

تعیین حداقل غلظت مهاري و نکومايسين (Minimum Inhibitory Concentration): به منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی از روش میکروتیتر پلیت استفاده شد، بدین صورت که به ۱۲ چاهک از هر ردیف در شرایط استریل مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت تازه مولر هیتون برات اضافه گردید. به اولین چاهک مقدار ۱۰۰ میکرولیتر آنتی‌بیوتیک ونکومايسين خریداری شده از شرکت داروسازی جابر بن حیان با غلظت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اضافه شد. ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک اول برداشته به چاهک دوم اضافه شد و پس از مخلوط شدن رقیق‌سازی به‌همین ترتیب تا چاهک ۱۰ ادامه یافت. چاهک یازدهم محیط کشت

به‌عنوان کنترل منفی (بدون آنتی‌بیوتیک و سلول باکتریایی) و چاهک دوازدهم حاوی سوسپانسیون میکروبی به عنوان کنترل مثبت (دارای سلول باکتریایی و بدون آنتی‌بیوتیک) در نظر گرفته شد. در پایان به هر یک از لوله‌ها به جز کنترل منفی که فقط دارای محیط کشت است ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی نیم مک فارلند افزوده شد و پلیت در انکوباتور با ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت قرار گرفت (۹-۱۲).

یافته‌ها

شناسایی ایتروکوکوکوس: در این مطالعه، مجموعاً ۸۰ سویه ایتروکوکوکوس در بازه‌ی زمانی ۹ ماه از بیمارستان‌های آیت الله موسوی و ولیعصر زنجان ایزوله گردید. تمام ایتروکوکوکوس‌ها توسط روش‌های آزمایشگاهی میکروبیولوژیکی که شامل رشد در محیط کشت بایل اسکولین سدیم ازاید آگار با ایجاد هاله سیاه رنگ، تست کاتالاز، واکنش PYR، رنگ‌آمیزی گرم و رشد در محیط کشت حاوی سدیم کلراید ۶/۵ درصد است شناسایی شدند.

ارزیابی حساسیت به آنتی‌بیوتیک: نتایج تست حساسیت به آنتی‌بیوتیک در جدول ۱ آورده شده است و به شرح زیر می‌باشد: مقاومت به ونکومايسين ۲ درصد، آمپی‌سیلین ۵۶/۱ درصد، نیتروفورانتس‌وین ۸/۱ درصد، جنتامایسین ۵۲/۱ درصد، اریترومايسين ۶۲/۵ درصد، استرپتومايسين ۶۲/۲ درصد، کلرامفنیکل ۶/۲ درصد، سیپروفلوکساسین ۷۰/۲ درصد و تیکوپلانیل ۲ درصد.

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی به ونکومايسين (MIC): حداقل غلظت مهارکنندگی در مورد ونکومايسين با استفاده از روش میکروتیتر پلیت انجام پذیرفت. گستره‌ی MIC برای نمونه‌های مقاوم به ونکومايسين ۵ تا ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین شد.

جدول ۱: نتایج تست حساسیت آنتی بیوتیکی در کل انتروکوکوس های ایزوله شده

نام آنتی بیوتیک	مقاوم تعداد (درصد)	حد واسط تعداد (درصد)	حساس تعداد (درصد)
ونکومايسين (30 µg)	۱ (۲)	۰ (۰)	۴۹ (۹۸)
آمپی سیلین (10 µg)	۲۸ (۵۶)	-----	۲۲ (۴۴)
نیترو فورانتوئین (300 µg)	۴ (۸)	۰ (۰)	۴۶ (۹۲)
جتتامایسین (120 µg)	۲۶ (۵۲)	۰ (۰)	۲۴ (۴۸)
اریترومایسین (15 µg)	۳۱ (۶۲)	۹ (۱۸)	۱۰ (۲۰)
استرپتومایسین (300 µg)	۳۱ (۶۲)	۱ (۲)	۱۸ (۳۶)
کلرامفنیکل (30 µg)	۳ (۶)	۰ (۰)	۴۷ (۹۴)
سیپروفلوکساسین (5 µg)	۳۵ (۷۰)	۲ (۴)	۱۳ (۲۶)
تیکوپلانیل (30 µg)	۱ (۲)	۱ (۲)	۴۸ (۹۶)

بحث

انتروکوکوس ها به دلیل مقاومت ذاتی نسبت به آنتی بیوتیک های استرپتومایسین، آمینو گلیکوزید، فلوروکینولون ها، سفالوسپورین ها و گلیکوپپتیدها و همچنین توانایی بالای آنها برای کسب مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های رایج دارای قابلیت زیادی در بقای طولانی مدت در محیط های بیمارستانی می باشند (۱۳). مواردی هم چون اقامت طولانی در بیمارستان، استفاده نامناسب از آنتی بیوتیک هایی از قبیل نسل سوم سفالوسپورین ها و ونکومايسين، پیوند اعضا، مصرف مترونیدازول، اعمال جراحی، دیابت، لوسمی ها، ضعف سیستم ایمنی به هر دلیل و نارسایی کلیه به عنوان عوامل مستعدکننده در کلونیزاسیون با این میکروارگانیسم ها هستند (۱۴). این مطالعه اولین بررسی در مورد میزان شیوع انتروکوکوس های مقاوم به آنتی بیوتیک در بیمارستان های دولتی شهر زنجان می باشد. در تحقیق پیش رو آمار مقاومت در مورد آنتی بیوتیک های مختلف متفاوت بود. در بین آنتی بیوتیک های مورد بررسی تیکوپلانیل و ونکومايسين با ۲ درصد، کمترین میزان مقاومت و

سیپروفلوکساسین با ۷۰/۲ درصد، بیشترین میزان مقاومت را به خود اختصاص داد. آنتی بیوتیک هایی که انتروکوکوس ها به آنها مقاومت ذاتی دارند در این تحقیق با مقاومت بالای ۵۰ درصد گزارش شده اند که شامل آمپی سیلین، جتتامایسین، استرپتومایسین و سیپروفلوکساسین می شوند. همچنین ۲ درصد از گونه ها VRE بودند که مقاومت اکتسابی دارند و می توانند زن مقاومت به ونکومايسين را به بقیه انتروکوکوس ها منتقل کنند و به راحتی گسترش یابند. حداقل غلظت مهارکنندگی در مورد آنتی بیوتیک ونکومايسين ۵ تا ۵۰ میکروگرم در میلی لیتر تعیین شد. درصد مقاومت به گلیکوپپتیدها در شهر زنجان احتمالاً به دلایل ذیل نسبتاً کم می باشد:

۱. تجویز منطقی آنتی بیوتیک ها
 ۲. استفاده مناسب و صحیح از ضد عفونی کننده های مناسب برای ضد عفونی کردن سطوح و وسایل در بیمارستان
 ۳. رعایت بهداشت فردی و عمومی توسط پرسنل بیمارستان ها و مراکز درمانی
- مقاومت به آمپی سیلین در تحقیق پیش رو ۵۶ درصد گزارش

شده است. این میزان مقاومت دو برابر مقاومت در انتروکوکوس‌های ارومیه در سال ۲۰۱۰ را دارد و با مطالعه‌ی پوراکبری در سال ۲۰۱۰ و مطالعه‌ی محمدی در سال ۲۰۱۰ در کرمانشاه و مطالعه‌ی شکوهی‌زاده در سال ۲۰۱۱ در تهران برابری می‌کند ولی نصف میزان مقاومت با مطالعه‌ی طیبی در سال ۲۰۱۴ در تهران و مطالعه‌ی چای‌ونگ در تایلند در سال ۲۰۱۴ را دارد که خبر از افزایش مقاومت در شهر تهران و کشور تایلند می‌دهد. میزان مقاومت به آمپی‌سیلین در بابل و همدان در سال ۲۰۱۴ نصف زنجان است که قابل توجه است. انتروکوکوس‌ها در کوبا و تایلند و تهران مقاومت بالایی از خود نسبت به آمپی‌سیلین نشان داده‌اند ولی در بابل و همدان و تبریز مقاومت کم و در ارومیه و زنجان مقاومت متوسط (۲۳-۱۴) بوده است.

در این تحقیق میزان مقاومت به جتتامایسین در انتروکوکوس‌های زنجان ۵۲ درصد گزارش شده است که این میزان مقاومت با مطالعه‌ی پوراکبری در سال ۲۰۱۰ در تهران و نجفی در همدان در سال ۲۰۱۴ برابری می‌کند و بسیار بیشتر از مطالعه‌ی علی‌پور در بابل در سال ۲۰۱۴ و مطالعه‌ی محمدی در سال ۲۰۱۰ در کرمانشاه و مطالعه‌ی سالم بخیت در عربستان در سال ۲۰۱۰ است. یعنی انتروکوکوس‌های بابل از نظر مقاومت به جتتامایسین پایین‌تر از انتروکوکوس‌های زنجان هستند و مقاومت انتروکوکوس‌های زنجان به جتتامایسین در حد انتروکوکوس‌های همدان و انتروکوکوس‌های ۴ سال پیش تهران است و از آن جایی که تهران طی ۴ سال به مقاومت حدود ۹۰ درصد رسیده است پس مقصد مقاومت به جتتامایسین انتروکوکوس‌های زنجان روشن است و اگر مصرف بهینه‌ی آنتی‌بیوتیک صورت نگیرد و دوز صحیح استفاده نشود مقاومت به جتتامایسین بسیار بالاتر از وضع موجود خواهد رفت (۲۵-۲۲ و ۲۰-۱۴).

در این مطالعه مقاومت به اریترومایسین در انتروکوکوس‌های زنجان ۶۲ درصد گزارش شده است که میزان مقاومت به

اریترومایسین در نمونه‌های زنجان با مطالعه‌ی سالم بخیت در عربستان در سال ۲۰۱۰ و مطالعه‌ی نجفی در همدان در سال ۲۰۱۴ و مطالعه‌ی محمدی در سال ۲۰۱۰ در کرمانشاه برابری می‌کند ولی بیشتر از مطالعه‌ی انجام شده در تایلند است. طبق داده‌های به‌دست آمده از این تحقیق و تحقیق‌های مشابه اریترومایسین در درمان عفونت‌های انتروکوکوسی توصیه نمی‌شود (۲۲ و ۲۰ و ۱۵).

در مطالعه‌ی حاضر میزان مقاومت به استرپتومایسین در انتروکوکوس‌های زنجان ۶۲ درصد گزارش شده است که با مطالعه‌ی مدل در کوبا در سال ۲۰۱۴ برابری می‌کند ولی از مطالعه‌ی محمدی در کرمانشاه در سال ۱۳۸۹ و شریفی در ارومیه و تبریز در سال ۲۰۱۰ بیشتر است. طبق داده‌های به دست آمده از این تحقیق و تحقیق‌های مشابه و از آن جایی که انتروکوکوس‌ها مقاومت ذاتی به استرپتومایسین دارند لذا این آنتی‌بیوتیک در درمان عفونت‌های انتروکوکوسی توصیه نمی‌شود (۲۳ و ۱۵ و ۱۳).

در تحقیق انجام شده مقاومت به سیپروفلوکساسین در انتروکوکوس‌های زنجان ۷۰ درصد بود که با مطالعه‌ی شکوهی‌زاده در سال ۲۰۱۱ در تهران برابری می‌کند و از مطالعه‌ی صورت گرفته در چین کمتر است و از همه‌ی مطالعات بیان‌شده در این تحقیق بیشتر است و نشان از مقاومت بالای این آنتی‌بیوتیک در این شهر نسبت به شهرها و استان‌های مجاور دارد و باید دقت بیشتری در تجویز این آنتی‌بیوتیک صورت گیرد تا مقاومت با شیب کمتری افزایش یابد. سیپروفلوکساسین در درمان عفونت‌های ادراری کاربرد بسیاری دارد، لذا مقاومت انتروکوکوس‌ها به این آنتی‌بیوتیک، بسیار اهمیت دارد. از آن سمت می‌توان با رعایت تجویز منطقی این دارو در عفونت‌های انتروکوکوسی و عدم تجویز آن در عفونت‌های مقاوم (چون گونه‌هایی که مقاومت نسبی دارند به راحتی افزایش می‌یابند) جلوی بیشتر شدن مقاومت به این دارو را گرفت (۱۸ و ۱۶). نیتروفورانتوئین آنتی‌بیوتیکی

مطالعات داخل ایران است (۲۳ و ۲۱ و ۱۸). در مطالعه‌ی پیش‌رو گستره‌ی MIC برای ونکومایسین ۵ تا ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین شد که با مطالعه‌ی شکوهی‌زاده و مطالعه‌ی چای‌ونگ در تایلند تطابق نسبی دارد. گستره‌ی MIC تحقیق پیش‌رو کمتر از مطالعه‌ی حسینی‌زاده در سال ۱۳۹۱ در اراک دارد (۲۴ و ۱۸ و ۱۶). گسترش مقاومت به گلیکوپپتیدها مثل ونکومایسین و تیکوپلانتین انتخاب‌های دارویی و درمانی را محدود کرده است، زیرا چگونگی درمان جایگزین در ایران پیشرفتی نداشته است و خطر مضاعف انتقال ژن‌های مقاومت به سایر باکتری‌ها مانند استافیلوکوک می‌باشد. برای محدود کردن شیوع انتروکوکوس‌های مقاوم به ونکومایسین (VRE)، لازم است که استفاده از دارو در زمینه‌های حیوانی و چه انسانی با احتیاط صورت گیرد. همچنین کنترل دایمی در مورد شیوع گونه‌های انتروکوکوس مقاوم به گلیکوپپتیدها در محیط‌های بیمارستانی ضروری است (۲۶). درمان عفونت‌ها در سراسر جهان با ظهور باکتری‌های مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مختلف دچار مشکل شده است (۱۱). افزایش انتروکوکوسوس مقاوم به ونکومایسین مشکل جدی در درمان عفونت‌های انتروکوکوسی ایجاد کرده است. از سوی دیگر خطر افزایش انتقال عامل این مقاومت به بقیه گونه‌های حساس به ونکومایسین وجود دارد (۲۶). بنابراین بایستی با تجویز منطقی و حساب شده‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها جلوی پیشرفت مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها گرفته شود.

نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر از میان آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی، تیکوپلانتین و ونکومایسین کمترین میزان مقاومت و سپروفلوکساسین بیشترین میزان مقاومت را به خود اختصاص دادند و حداقل غلظت مهارکنندگی در مورد آنتی‌بیوتیک ونکومایسین ۵ تا ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین شد.

است که باعث آسیب به DNA باکتری می‌شود، میزان مقاومت به نیتروفورانتوئین در انتروکوکوس‌های زنجان ۸ درصد گزارش شده است. فقط در مطالعه‌ی شکوهی‌زاده در سال ۲۰۱۱ در تهران مقاومت بالایی به این آنتی‌بیوتیک مشاهده شد و در بقیه‌ی مطالعات صورت گرفته مقاومت پایین گزارش گردیده است. این یافته می‌تواند به درمان عفونت‌های انتروکوکوسی کمک کند چون انتروکوکوس‌ها هنوز به این آنتی‌بیوتیک مقاوم نشده‌اند (۱۶).

میزان مقاومت به کلرامفنیکل در انتروکوکوس‌های زنجان ۶ درصد گزارش شده است. این میزان مقاومت از بقیه‌ی مطالعات صورت گرفته کمتر است و نشان از درصد مقاومت بسیار پایین در شهر زنجان دارد. تیکوپلانتین از دسته‌ی گلیکوپپتیدها است و میزان مقاومت به آن در این مطالعه ۲ درصد گزارش شد. میزان مقاومت در زنجان با مطالعه‌ی وهابی در سال ۲۰۱۲ در تبریز، سالم بخیت در عربستان در سال ۲۰۱۰ و حسینی‌زاده در اراک مطابقت دارد. در کل در ایران به ویژه زنجان مقاومت به تیکوپلانتین در حد بسیار پایین می‌باشد، که می‌تواند ناشی از تجویز به موقع این آنتی‌بیوتیک باشد (۲۴ و ۲۲ و ۸). ونکومایسین آنتی‌بیوتیکی دیگر از دسته گلیکوپپتیدها است که تعدادی از انتروکوکوس‌ها به آن مقاومت ذاتی دارند (۲۶). از تعداد ۸۰ نمونه‌ی زنجان، ۹۸ درصد نمونه‌ها (۹۸ نمونه) به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین حساس بودند. جالب اینجاست که درصد نمونه‌های حد واسط در ایزوله‌های جداشده از نمونه‌های زنجان ۰ درصد گزارش شد. میزان مقاومت به ونکومایسین در انتروکوکوس‌های زنجان با مطالعه‌ی علی‌پور در بابل در سال ۲۰۱۴ و محمدی در کرمانشاه در سال ۲۰۱۱ و شریفی‌یزدی در تهران در سال ۲۰۱۳ و مطالعه‌ی وهابی در تبریز در سال ۲۰۱۲ مطابقت نسبی دارد و زیر ۱۰ درصد است (۱۹ و ۱۵ و ۱۳ و ۸). میزان مقاومت به ونکومایسین در چین و تایلند و کوبا بسیار بیشتر و حدود دو برابر میزان مقاومت در

تقدیر و تشکر

پژوهش که پایان نامه دکترای حرفه‌ای داروسازی می‌باشد تشکر و قدردانی می‌گردد.

بدینوسیله از مرکز تحقیقات زیست فناوری دارویی دانشگاه علوم پزشکی زنجان جهت حمایت‌های مالی این

References

- 1- Gilmore MS, Coburn PS, Nallapareddy SR, et al. History, taxonomy, biochemical characteristics, and antibiotic susceptibility testing of enterococci. In: Gilmore MS, Clewell DB, Courvalin P (eds) The enterococci: pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistance. ASM, Washington, DC: 2002.
- 2- Geo FB, Karen CC, Janet SB, Stephen AM. Jawetz- Melnick & Adelborg's Medical Microbiology. 26th ed. United State: McGraw-Hill; 2013.
- 3- Clewell DB. Movable genetic elements and antibiotic resistance in enterococci. *Eur J Clin Microbial Infect Dis*. 1990; 9: 90-102.
- 4- Mihajlovic-Ukropina M, Medic D, Jelesic Z, Gusman V, Milosavljevic B, Radosavljevic B. Prevalence of different enterococcal species isolated from blood and their susceptibility to antimicrobial drugs in Vojvodina, Serbia, 2011-2013. *Afr J Microbiol Res*. 2014; 8: 819-24.
- 5- Murray BE. Vancomycin-resistant enterococcal infections. *N Engl J Med*. 2000; 342: 710-21.
- 6- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology Mosby. 2002: 236-9.
- 7- Tenover FC. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am J Infect Control*. 2006; 6: 3-10.
- 8- Vahhabi A, Hasani A, Nahaei M, Frajnia S. PCR assay for detection of vanA and vanB genes from intestinal carriers of vancomycin-resistant enterococci in three educational hospitals of Tabriz university of medical sciences. *Iranian J Med Microbiol*. 2010; 1: 65-68.
- 9- Cockerill F. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-first informational supplement. *Clin Lab Standards Ins*. 2011; 1: 42-46.
- 10- Performance standards of antimicrobial disc susceptibility tests, CLSI Vol. 32 No.3, Jan 2012.
- 11- Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall G. Vancomycin resistance Enterococci. *Clin Microbiol Rev*. 2000; 13: 686-707.
- 12- Byers KE, Anglim AM, Anneski CJ, Germanson TP, Gold HS, Durbin LJ. A hospital epidemic of vancomycin-resistant Enterococcus: risk factors and control. *Infect control hosp epi*. 2001; 3: 140-47.
- 13- Sharifi Y, Hasani A, Ghotaslou R, et al. Virulence and antimicrobial resistance in enterococci isolated from urinary tract infections. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2013; 3: 197-201.
- 14- Pourakbari B, Aghdam MK, Mahmoudi S, et al. High frequency of vancomycin-resistant *Enterococcus Faecalis* in an Iranian referral children medical hospital. *Mædica*. 2012;7: 201-4.
- 15- Mohammadi F, Tabaraie B, Sadeghifard N, et al. Evaluation of drug resistance frequency

- among *Enterococcus faecium* and *E. faecalis* strains and detection of vanA/B genes in vancomycin resistance isolated by PCR method in Ilam and Kermanshah hospitals. *Sci J Ilam Unive Med Sci*. 2010; 19: 1-8.
- 16- Shokoohizadeh L, Mohabati Mobarez A, Zali M, Ranjbar R, Alebouyeh M. Frequency of vancomycin-resistant *Enterococcus Faecium* Strains Isolated from Urinary Tract infections (UTI) in 4 hospitals of tehran. *J Zanjan Univ Med Sci*. 2014; 22: 121-30.
- 17- Tayebi Z, Sadat Seyedjavadi S, Goudarzi M, et al. Frequency and antibiotic resistance pattern in gram positive uropathogenes isolated from hospitalized patients with urinary tract infection in Tehran, Iran. *The J Genes, Microbes and Immunity*. 2014; 1-9.
- 18- Chaiwong T, Srivoramas T, Panya M, Wanram S, Panomket P. Antibiotic resistance patterns of *Enterococcus spp.* isolated from *Musca domestica* and *Chrysomya megacephala* in ubon Ratchathani. *J Mel Assoc of Thailand= Chotmai het thangphaet*. 2014; 97 Suppl 4: S1-6.
- 19- Alipour M, Hajiesmaili R, Talebjannat M, Yahyapour Y. Identification and antimicrobial resistance of *EnterococcusSpp.* isolated from the river and coastal waters in Northern Iran. *The Sci W J*. 2014; 1-5.
- 20- Najafi Mosleh M, Nasaj M, Rahimi F, Arabestani MR. Distribution rates and antibiotic resistance pattern of *Enterococcus Spp.* isolated from clinical specimens of hospitals in hamedan. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2014; 24: 92-102.
- 21- Medell M, Hart M, Batista ML. [In vitro antimicrobial susceptibility in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolated from hospitalized patients]. *Biomedica: revista del Instituto Nacional de Salud*. 2014; 34 Suppl 1: 50-57.
- 22- Salem-Bekhit MM, Moussa I, Muharram MM, Alanazy FK, Hefni HM. Prevalence and antimicrobial resistance pattern of multidrug-resistant enterococci isolated from clinical specimens. *Indian J Med Microbiol*. 2012; 30: 44-51.
- 23- Bao L, Peng R, Ren X, Ma R, Li J, Wang Y. Analysis of some common pathogens and their drug resistance to antibiotics. *Pakistan J Med Sci*. 2013; 29: 135-39.
- 24- Hoseinizadeh A, Abtahi H, ShojaPour M, Akbari M, Nazari R, Sofian M. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of vancomycin resistant enterococci isolated from clinical sample of educational hospitals in Arak. *Arak Uni Mel Sci J*. 2012; 15: 11-16.
- 25- Wegener HC, Aarestrup FM, Jensen LB, Hammerum AM, Bager F. Use of antimicrobial growth promoters in food animals and *Enterococcus faecium* resistance to therapeutic antimicrobial drugs in Europe. *Emerg Infect Dis*. 1999: 329-35.
- 26- Willems RJL, Bonten MJM. Glycopeptideresistant enterococci: deciphering virulence, resistance and epidemicity. *Curr Opinion Infect Dis*. 2007: 384-90.

Prevalence and Antibiotic Resistance Patterns of Isolated Enterococci from Hospitals of Zanzan City

Hassan M¹, Jahangiri H², Kamali K³, Hojabri Z⁴

¹Pharmaceutical Biotechnology Research Center, Faculty of Pharmacy, Zanzan University of Medical Sciences, Zanzan, Iran

²Faculty of Pharmacy, Zanzan University of Medical Sciences, Zanzan, Iran

³Dept. of Food Safety & Hygiene, Faculty of Paramedical & Health Sciences, Zanzan University of Medical Sciences, Zanzan, Iran

⁴Dept. of Microbiology, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

Corresponding Author: Hassan M, Pharmaceutical Biotechnology Research Center, Zanzan University of Medical Sciences, Zanzan, Iran.

E-mail: mhassan@zums.ac.ir

Received: 9 Apr 2015 **Accepted:** 12 Jul 2015

Background and Objective: Enterococci lead to many problems in terms of treatment failure and mortality in patients especially due to antibacterial resistance. Identification of antibiotic resistance in community is of extreme importance to prevent failures particularly in the treatment of infections. Therefore, this study intended to screen antibiotic-resistant enterococci samples from patients.

Materials and Methods: Samples were collected from feces and blood of patients hospitalized over a period of 9 months from July 2013 to March 2014 in Vali-e Asr and Mousavi hospitals. Diagnostic tests such as growth in the presence of bile esculin agar and NaCl 6.5% as well as catalase and Gram staining were performed to verify the samples. Agar disk diffusion method for antibiotic susceptibility testing and microtitre plate assay was performed to evaluate the MIC of vancomycin.

Results: Among the tested antibiotics, ciprofloxacin showed the highest and teicoplanin as well as vancomycin exhibited the least antibiotic resistance. Interestingly, vancomycin minimum inhibitory concentration was determined 5 to 50 µg/ml.

Conclusion: In our study, isolated enterococci from the hospitalized patients showed relatively high resistance to majority of antibiotics. Meanwhile, antibiotic resistance to teicoplanin and vancomycin were acceptable in comparison to other similar studies.

Keywords: Antibiotic resistance, Enterococci, Zanzan, MIC