تحقیقی

دارای رتبه علمی-پژوهشی
ازکمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

الگوی مقاومت انتروکوک های جدا شده از عفونت های بیمارستانی (بیمارستان های شهر های گنبد و گرگان

ابراهیم نقی پور
کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، ایران
علی رائفی
کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، ایران
آیت الله نصرالهی عمران
دانشیار میکروب شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، ایران

نویسنده مسئول: علی رائفی

پست الکترونیک: alito.raefi@yahoo.com

تلفن :۰۹۱۱۶۶۳۷۵۳۲

آدرس: دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، ایران

دریافت: ۹۳/۲/۲٤
ویرایش پایانی: ۹۳/٦/۲۰
پذیرش: ۹۳/٦/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: *انتروکوک ها فلور طبیعی قسمت های مختلف بدن انسان هستند و به عنوان سومین عامل عفونت های بیمارستانی محسوب می شوند. هدف این تحقیق تعیین مقاومت های دارویی گونه های مختلف انتروکوک، از طریق روش های بیوشیمیایی بود.*

روش بررسی: *تعداد ۱۲۸ نمونه مشکوک به انتروکوک ، از فروردین ۹۱ تا تیر۹۲ در بیمارستان های گنبد وگرگان جداسازی گردید. نمونه ها در بلاد آگار، کروم آگار و EMB آگار و سایر محیط های مخصوص جداسازی خانواده انتروکوک کشت داده شد. سوسپانسیون باکتری ها در محیط مولر هینتون آگار کشت داده و قطر هاله عدم رشد دیسک های آنتی بیوگرام بررسی گردید.*

یافته ها: *از ۱۲۸ نمونه، ۱۰۹ مورد (۸۵/۱۵ ٪) انتروکوکس فکالیس و ۱۹مورد (۱۴/۸۵ ٪) انتروکوکوس فیسیوم جدا شد. که از ۱۲۸ نمونه حاوی انتروکوک فیسیوم و فکالیس، ۸ نمونه به آموکسی سیلین، ۱۰ به نمونه آمپی سیلین، ۵ نمونه به جنتامایسین، ۵ نمونه به سیپروفلوکسازین، ۶ نمونه به کلرامفنیکل، ۴ نمونه به سفالکسین، ۱ نمونه به ونکومایسین مقاومت نشان دادند.*

نتیجه گیری: *انجام آزمون های حساسیت دارویی برای درمان مناسب و جلوگیری از سویه های مقاوم ضروری به نظر می آید.*

واژه های کلیدی: *انتروکوک، مقاومت آنتی بیوتیکی، آنتی بیوگرام*

آدرس مقاله
نقی پور ا، رائفی ع، نصرالهی عمران آ"الگوی مقاومت انتروکوک های جدا شده از عفونت های بیمارستانی (بیمارستان های شهر های گنبد و گرگان)" مجله علوم آزمایشگاهی، ویژه نامه مقاومت دارویی در میکرو ارگانیسم ها" دوره هشتم(شماره ۴):۶۱-۶۵

مقدمه

انتروکوک ها در نواحی مختلف بدن انسان و سایر پستانداران، به صورت فلور طبیعی یا باکتری های سازشگر و فرصت طلبی که مقاومت های دارویی زیادی را نشان می دهند زندگی می کنند این مقاومت به طور فزاینده ای در حال افزایش است. در صورت استفاده از آنتی بیوتیک مناسب، طول دوره درمان و عوارض ناشی از آن را کمتر شاهد خواهیم بود. (۱) *انتروکوک ها* به دلیل کسب مقاومت اکتسابی به چندین آنتی بیوتیک مهم بالینی مانند ونکومایسین بعد از *E.coli* و *استافیلوکوک اورئوس* به عنوان سومین عامل عفونت های بیمارستانی محسوب می شوند. شیوع آن ها به خاطر استفاده از آنتی بیوتیک های گلیکولیپیدی، افزایش یافته و با گذشت زمان به سایر آنتی بیوتیک ها نیز مقاوم شده اند.(۲) محققان طی این سال ها دریافتند با وجود بهتر شدن وضع بهداشت کلی مردم، باز شاهد افزایش چشم گیر عفونت های باکتریایی بخصوص *انتروکوک* هستیم(۳) که مهمترین علت آن، مقاومت طبیعی و ذاتی آنها در برابر آنتی بیوتیک ها و هم چنین انتقال این مقاومت ها به وسیله کونژوگاسیون، پلاسمیدها و تراسپوزون ها در بین یک جنس یا با سایر جنس های باکتری می باشد. (۴) از دهه ۱۹۸۰ میلادی به بعد بیشترین میزان شیوع انتروکوک فکالیس، به میزان ۸۰ تا ۹۰ درصد و انتروکوک فیسیوم، ۱۰ تا ۱۵ درصد گزارش شده است. *انتروکوک فکالیس* در کانال ریشه دندان‌هایی که تحت دست کاری های دندانپزشکی قرار گرفته‌اند به طور گسترده دیده شده‌است.(۵) این باکتری به آنتی بیوتیک ونکومایسن بیشترین مقاومت را نشان می دهد(۶). همچنین مقاومت به آنتی بیوتیک های آموکسی سیلین، آمپی سیلین، جنتامایسین، سیپروفلوکسازین، کلرآمفنیکل و سفالکسین با گذشت زمان رو به افزایش است. هدف از انجام این تحقیق، بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *انتروکوک* جدا شده از نمونه‌های بالینی، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج و پر مصرف در بیماران بستری بود.

روش بررسی

این مطالعه بر روی نمونه های ادراری و کشت خون سه مرکز درمانی شهدای گنبد ، مطهری گنبد و ۵ آذر گرگان از فروردین۹۱ تا تیر ۹۲ صورت گرفت. نمونه های ادرار یا کشت خون در سه در دو دمای۱۰ و ۴۵ درجه سانتی گراد کشت داده شد. انتروکوک ها می توانند نمک های صفراوی ۴۰ درصد و دمای بالای ۴۵ درجه سانتی گراد را تحمل می کنند و تولید پیگمان آبی در محیط کروم در افتراق انتروکوک ها از سایر گونه های باکتریایی استرپتوکوک های آلفا و بتاهمولیتیک استفاده گردید(۹) سپس آزمایشات تکمیلی شامل آزمون های افتراقی تحمل NaCl ۶/۵ درصد ، هیدرولیز موادی مانند پیروات، بایل اسکولین، قند آرابینوز و سوربیتول و آزمون PYR نیز انجام گردید و انتروکوک های جدا شده از نمونه ها بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت حاوی و آنتی بیوتیک های (شرکت پادتن تب) ونکومایسین (۳۰µg)، کلرامفنیکل (۳۰µg)، آمپی‌سیلین (۱۰µg)، سفالکسین (۳۰µg)، آموکسی سیلین (۳۰µg)، سیپروفلوکسازین (۵µg) وجنتامایسین (۱۰µg) تست داده شدند.

یافته ها

در این مطالعه از مجموع ۱۲۸ نمونه (۱۲۳ نمونه ادراری و ۵ نمونه خون)، ۶۱ نمونه از بیمارستان شهدای گنبد (۵۱ نمونه انتروکوک فکالیس و ۱۰ نمونه انتروکوک فیسیوم)، ۱۴نمونه از بیمارستان مطهری(۱۲نمونه انتروکوک فکالیس و ۲ نمونه انتروکوک فیسیوم) و۵۳ نمونه از بیمارستان ۵ آذر (۴۶ مورد انتروکوک فکالیس و۷ نمونه انتروکوک فیسیوم) جدا و تعیین گونه گردید. انتروکوک فکالیس۸۵/۱۵ درصد مورد و انتروکوک فیسیوم ۱۴/۸۵ درصد جدا گردید. نتایج نشان می دهد مقاومت به آموکسی سیلین ۸ مورد(۷/۳۴ ٪)، آمپی سیلین ۷ مورد (۶/۴ ٪)، جنتامایسین ۴مورد (۳/۶۶٪) ، سیپروفلوکسازین ۳مورد (۲/۷۵٪) ، کلرامفنیکل ۴مورد (۳/۶۶٪)، سفالکسین ۳مورد (۲/۷۵٪) و ونکومایسین ۸ مورد (۷/۳۴٪) بدست آمد از ۱۹ نمونه مربوط به انتروکوک فیسیوم، مقاومت به آموکسی سیلین ۲مورد (۱۰/۵ ٪)، آمپی سیلین۳ مورد (۱۵/۷۸٪)، جنتامایسین ۱مورد (۵/۲۶٪)، سیپروفلوکسازین ۲مورد (۱۰/۵٪)، کلرامفنیکل ۲مورد (۱۰/۵٪)، سفالکسین ۱ مورد (۵/۲۶٪) و ونکومایسین ۳مورد (۱۵/۷۸٪) مقاومت مشاهده گردید. در نتیجه، از مجموع کل ۱۲۸نمونه کشت ادراری و کشت خون انتروکوک

جدول۱-تعداد نمونه های گردآوری شده از هر بیمارستان به تفکیک گونه

مراکز درمانی تعداد ٪	مطهری	شهداء گنبد	۵ آذر	مجموع
انتروکوک فکالیس	۱۲	۵۱	٤٦	۱۰۹(٪۸۵/۱۵)
انتروکوک فیسیوم	۲	۱۰	۷	۱۹(٪۱٤/۸۵)

فاسیوم و فکالیس، مقاومت به آموکسی سیلین ۸ مورد (۶/۲۵٪)،آمپی سیلین۱۰ مورد (۷/۸۱٪)، جنتامایسین ۵ مورد (۳/۹۰ ٪)، سیپروفلوکسازین ۵ مورد (۳/۹۰ ٪)، کلرامفنیکل ۶ مورد (۴/۶۸٪)، سفالکسین ۴مورد (۳/۱۲٪) و وانکومایسین ۱۱مورد (۸/۵۹٪) مشاهده شد. مقاومت به چند آنتی بیوتیک مانند جنتامایسین آمپی سیلین وانکومایسین ۳ مورد (۳۴/۲٪) سیپروفلوکسازین- ونکومایسین ۴ مورد(۱۲/۳٪) مقاومت نشان دادند.

بحث

انتروکوک ها به علت داشتن خواص منحصر به فرد مانند توانایی ذاتی و القایی در بدست آوردن مقاومت های آنتی بیوتیکی در برابر داروهای مختلف، باعث ایجاد انواع مقاومت های آنتی بیوتیکی در بیماران بستری در بیمارستان ها می شوند به طوری که با افزایش مدت زمان بستری، یا سایر عوامل دیگر، ضعف سیستم ایمنی یا بیماری های مختلف ژنتیکی، احتمال آلودگی به این باکتری ها بیشتر خواهد شد. در حال حاضر باکتری ها به خصوص انتروکوک ها نسبت به آنتی بیوتیک های فراوانی مقاوم شده اند که مهمترین آنها ونکومایسین می باشد که دارای چندین ژن مختلف است در نتیجه یک انتروکوک می تواند چندین ژن مقاوم را نیز به طور همزمان داشته باشد. *انتروکوک ها* عامل ۱۰-۱۲ درصد از عفونت های بیمارستانی، ۱۰-۱۲ درصد عفونت های ادراری و ۵-۱۰ درصد از سپتی سمی های بوجود آمده در بیمارستان ها هستند. مخزن انتروکوک ها روده بزرگ بوده بنابراین اکثر عفونت های انتروکوکی منشاء داخلی دارند در نتیجه انتشار این ارگانیسم از یک بیمار به بیمار دیگر از طریق دست های آلوده کارکنان صورت می گیرد. انتروکوک های حساس و مقاوم به ونکومایسین برای مدت ۳۰ دقیقه در دست افراد زنده باقی می مانند درنتیجه شستشو با آب صابون قادر به از بین بردن آن ها نیست. این باکتری ها به کلروهگزیدین (Chlorhexidin) آب دار نیز مقاومند و تنها الکل و کلروهیگزیدین الکلی می توانند انتروکوک ها را از بین ببرند. دومین راه انتقال آلودگی شایع انتروکوک ها بعد از دست های کارکنان بیمارستان، اشیاء موجود در بخش های بستری بیماران است که به طور فراوان با دست های آلوده کارکنان، این انتقال آلودگی صورت می گیرد (۱۳). در یک مطالعه تجربی که توسط حسین زاده و همکاران در سال ۹۱ در اراک صورت گرفت، آزمون تعیین حساسیت باکتری *انتروکوک* نشان داد که ۱۴/۶ درصد از نمونه‌ها به ونکومایسین و ۵/۳ درصد نیز به تیکوپلانین، ۶۴ درصد به اریترومایسین، ۴۰ درصد به کوتریماکسازول، ۳۸/۶ درصد به سیپروفلوکساسین، ۶/۶ درصد به تتراسایکلین و ۳۸/۷ درصد از نمونه‌ها جنتامیسین مقاوم بودند. (۱۴) جنتامایسین و سیپروفلوکسازین به مراتب مقاومت بیشتری در مقایسه با نتایج این مطالعه نشان داد ولی مقاومت نمونه ها به ونکومایسین در این تحقیق بیشتر مشاهده گردید. مقاومت آنتی بیوتیکی نمونه های در تحقیق ما به مراتب پایین تر از بررسی *انتروکوک های* مقاوم به آنتی بیوتیک درنمونه های مدفوعی بیماران بستری در بیمارستان شهید بهشتی کاشان بود که نشان داد ۹۶ تا ۱۰۰درصد سویه های جدا شده به استرپتومایسین، ۸۲ درصد به اریترومایسین، ۷۰ درصد به سیپروفلوکساسین، ۶۰ درصد به نیتروفورانتوئین و آمپی سیلین، ۴۴ درصد به جنتامایسین، ۳۸ درصد به تتراسایکلین، ۳۴ درصد به پنی سیلین G و ونکومایسین، ۳۳ درصد به لاینزولید و۲۰ درصد به لوفلوکساسین مقاوم بودند. جداسازی انتروکوک مقاوم به ونکومایسین به طور مهمی با بیماری زمینه ای ارتباط دارد(۱۵). بررسی اثر آنتی بیوتیک ها بر سلول های پلانکتونیکو بیوفیلم سویه های بالینی انتروکوک در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که بیشترین و کمترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های انتروکوکی به ترتیب نسبت به پنی سیلین (۱۰۰٪) و نیتروفورانتوئین (۷٪) است(۱۶). استفاده از کینولون ها در درمان عفونت مجاری ادراری ناشی از انتروکوک ها به علت مقاومت بالای آنها به داروی مذکور مستلزم تحقیق و بررسی بیشتر می باشد. بنابراین استفاده از کینولون ها ممکن است خطر مقاومت به کلرامفنیکل در بین سویه های مقاوم به ونکومایسین را افزایش دهد. در مطالعه ای در ایلام، ازمجموع ۱۸۰ نمونه، ۵۹/۴ درصد به آمپی سیلین، ۲/۲ درصد به جنتامایسین، ۸/۳ درصد به ونکومایسین، ۳۶/۱ درصد به کلرامفنیکل و ۳/۸ درصد به آمیکاسین و سیپروفلوکساسین حساس بودند(۱۷). طبق تحقیقی در بیمارستان های لبافی نژاد و شهید چمران از ۳۳۹ سویه آنتروکوکی، ۲۷۳ سویه (۷۷/۵٪) به گونه فکالیس و ۶۶ سویه(۲۲/۵٪) به گونه فسیوم تعلق داشت. سویه های آنتروکوک فکالیس وآنتروکوکوک فیسیوم به ترتیب درمقاوم بودن نسبت به آنتی بیوتیک های، آمپی سیلین (۱۳٪ دربرابر ۷۷٪)، پنی سیلین (۱۴٪ دربرابر ۹۵٪)، سیپروفلوکساسین (۵۷٪ در برابر۸۰٪)، نیتروفورانتوین(۱۸٪ دربرابر ۵۴٪)، ایمی پنم (۳٪ دربرابر ۸۳٪) وکلرامفنیکل (۵٪ دربرابر ۲۰٪) اختلاف چشم گیر داشتند. تمام سویه های آنتروکوک فکالیس (۲۷۳ سویه) به ونکومایسین ولینزولید (Linezolid) حساس بوده ولی میزان مقاومت به ونکومایسین درمیان سویه های آنتروکوک فسیوم طی این تحقیق از ۵ درصد به ۱۰/۶ درصد افزایش یافته است(۱۸). در این مطالعه

میزان مقاومت به مراتب پایین تر بود که احتمالاً ناشی از محدود بودن تعداد نمونه های انتروکوک مورد مطالعه می باشد. مقاومت های به دست آمده به ونکومایسین، در سویه های *انتروکوک* جدا شده در بیمارستان های گنبد و گرگان نسبت به آنتی بیوتیک های آموکسی سیلین، آمپی سیلین، جنتامایسین، سیپروفلوکسازین، کلرامفنیکل و سفالکسین بیشتر بوده است به علت وجود ژن های فراوان دخیل در ایجاد این مقاومت از سایر آنتی بیوتیک ها (مانند بیشتر نقاط دنیا) درصد انتروکوک های مقاوم به ونکومایسین از همه بیشتر بوده و خطر انتقال مقاومت به سایر باکتری ها مانند استافیلوکوک وجود دارد.

نتیجه گیری

انجام آزمون های حساسیت دارویی برای درمان مناسب و جلوگیری از سویه های مقاوم ضروری به نظر می آید.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد است. با تشکر از آقای دکتر محمدرضا خاتمی نژاد، آقای دکترمسعود هاشمی، آقای دکتریعقوب یزدانی و آقای دکتر وحید سلیمی به خاطر مشاوره و حمایت های بی دریغ و کارکنان محترمی که در تهیه نمونه ها کمک کردند.

References

1. MurrayBE.*Diversity among multidrug-resistant enterococci*.Emerge Infec Dis. 1998; 4(1): 37-47.

2. Vershinin AE, Kolodzhieva VV, Ermolenko EI, Grabovskaia KB, Klimovich BV, Suvorov AN, et al. *Genetic Identification as method of detection of pathogenic and symbiotic strains of enterococci* .Zh Microbiol Epidemiol Immunobiol. 2008; (5): 70-83.

3. Murray BE. *The life and times of the Enterococcus*. ClinMicrobiol Rev. 1990; 3(1): 46-65.

4. Chow JW1, Thal LA, Perri MB, Vazquez JA, Donabedian SM, Clewell DB, et al. *Plasmid-associated hemolysin and aggregation substance production contribute to virulence in experimental enterococcal endocarditis*. Antimicrob Agents Chemother. 1993; 37(11): 2474-7.

5. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T*: Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis.* IntEndod J. 1998; 31(1): 1-7.

6. Feizabadi MM, Zaharis, GharaviZ. *plasmid fingerprinting of high level gentamicin resistant strain of enterococcus faecalis cultured from patints in iran*. 6th international meeting of microbial epidemiological markers les diablerts. 2003; 27-30.

7. Sood S, Malhotra M, Das B, Kapil A. *Enterococcal infections & antimicrobial resistance*. Indian J MedRes. 2008; 128(2): 111-21.

8. Nannini E, Murray BE, Arias CA. *Resistance or decreased susceptibility to glycopeptides, daptomycin, and linezolid in methicillin-resistant Staphylococcus aureus.* Current opinion in pharmacology. 2010; 10(5): 516-21.

9. Dworkin M, Falkow S, Rosenberg S, Schleifer KH, Stackebrandt E. *The Prokaryotes*. 3th ed. 2006; 1171-1179.

10. ManeroA, BlanchAR. *Identification of Entrococcus Spp with Biochemical key*. Appl Environ Microbio. 1999; 65(10): 4425-30.

11. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; *Twenty-Second Informational Supplement M100-S22.* Wayne, PA: CLSI. 2012.

13. GikasA, ChristidouA, ScoulicaE, NikolaidisP, SkoutelisA, Levidiotou S, et al. *Epidemiology and molecular analysis of intestinal colonization by vancomycin-resistant enterococci in Greek hospitals*. J clin microbial. 2005; 43(11): 5796-90.

14. 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 University of Medical Sciences Journal. 2012; 15(6): 11-16.

15. Ghaffarpasand I, Moniri R, Kheradi E. *The prevalence of fecal carriage of antibiotic resistant enterococci among hospitalized patients in Shahidbeheshti hospital, Kashan, Iran at 2007*. KAUMS Journal (FEYZ). 2010; 14(1): 70-75.

16. SalehiM, abangahF, hosseini F. *In VitroStuding of the Effect of Antibiotics on Planktonic Cells and Biofilm Clinical Isolates of Enterococcus*. journal of ilam university of medical sciences. 2013; 21(2): 51-59.[Persian]

17. Mohammadi F, Tabaraie B, Sadeghifard N, Ghafoorian S, Maleki A, Davoodian E, et al. *Evaluation of Drug Resistance Frequency Among Entro cocci faecium and E. faecalis Strains And Detection of VanA/B Genes in Vancomycin Resistance Isolated By PCR Method in Ilam And Kermanshah hospitals.* Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences.2011; 19(2): 1-8.[Persian]

18. Feyzabadi MM, Asadi S, Khatibi S, Etemadi G, Mahmood P, Oskouee M. The study of Enterococcus Faecium and Enterococcus Faecalis in Labafi Nejad and Shahid Chamran hospitals (2000-2003). 2005; 9(6): 333-9.

Resistance Pattern of *Enterococci* Isolated from Nosocomial Infections in the Hospitals Located in Gonbad and Gorgan Cities, Iran

Naghipoor, E. (MSc)
MSc of Microbiology, School of Biology Sciences, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Iran

Raefi, A. (Msc)
MSc of Microbiology, School of Biology Sciences, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Iran

Nasrollahi Omran, A. (PhD)
Associate Professor of Microbiology, School of Biology Sciences, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Iran

Corresponding Author: Raefi, A.

Email: alito.raefi@yahoo.com

Received: 14 Jun 2014
Revised: 11 Sep 2014
Accepted: 14 Sep 2014

Abstract

Background and Objective: Enterococci are normal flora of human body and considered as the third leading cause of nosocomial infections. The aim of this study was to determine drug resistance of Enterococcus species through biochemical methods.

Material and Methods: One hundred twenty-eight of enterococcus suspected samples were isolated from gorgan and gonbad's hospitals from April to June, 2013. The samples were cultured on blood agar, chrome-agar, EMB agar and some special cultures of isolation of Enterococcus species. Suspension of bacteria was grown in Mueller Hinton agar and the inhibition zone diameter was determined by disk antibiogram.

Results: Of 128 samples, 109(85.15%) were *enterococci faecalis* and 19 (14.85%) *Enterococcus Faecium*. In all of 128 cases, eight showed resistance to amoxicillin, ten to ampicillin, five to gentamicin, five to ciprofloxacin, six to chloramphenicol, four to cephalexin and one to vancomycin.

Conclusion: It seems to be necessary to use drug sensitivity test for having appropriate treatment and preventing from resistance strains.

Keywords: Enterococci, Antibiotic Resistance, Antibiogram

This paper should be cited as: Naghipoor E, Raefi A, Nasrollahi Omran A. [Resistance Pattern of Enterococci Isolated from Nosocomial Infections in the Hospitals Located in Gonbad and Gorgan Cities, Iran]. mljgoums. 2014; 8(Suppl 4): 61-65[Article in Persian]