



بررسی الگوی مقاومت فنوتیپی انتروکوکوس فکالیس های جداسازی شده از نمونه های خون و ادرار بیماران بستری در بیمارستان رسول اکرم (ص) شهر تهران

سارا مینائیان: استادیار، پژوهشکده ایمونولوژی و بیماری‌های عفونی، بیمارستان رسول اکرم، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
ID مهشید طالبی طاهر: استاد، گروه بیماری‌های عفونی، پژوهشکده ایمونولوژی و بیماری‌های عفونی، بیمارستان رسول اکرم، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران (* نویسنده مسئول) Talebitaher.m@iums.ac.ir

اسمعیل پور عسگری: دستیار بیماری‌های عفونی، گروه بیماری‌های عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
مهسا دادگر: کارشناس ارشد میکروبیولوژی، پژوهشکده ایمونولوژی و بیماری‌های عفونی، بیمارستان رسول اکرم، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
زهرا السادات ذبحی: دستیار بیماری‌های عفونی، گروه بیماری‌های عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

عفونت‌های بیمارستانی،
مقاومت دارویی،
انتروکوکوس فکالیس

زمینه و هدف: عفونت بیمارستانی زمانی که منشا آن باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها باشد چالش بزرگی برای کادر درمان و مراکز درمانی ایجاد می‌کنند. انتروکوکوس فکالیس از جمله باکتری‌هایی است که نقش مهمی در ایجاد عفونت بیمارستانی دارد. بنابراین بررسی شیوع و الگوی مقاومت این باکتری در مراکز درمانی بخصوص در بیمارستان‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. در این مطالعه هدف بررسی الگوی مقاومت فنوتیپی انتروکوکوس فکالیس جداسازی شده از نمونه‌های خون و ادرار بیماران بستری در بیمارستان رسول اکرم (ص) می‌باشد.

روش کار: این مطالعه مقطعی - زمانی (Case series) از بهمن ۹۷ تا دی ماه ۹۸ در بیمارستان رسول اکرم (ص) در تهران انجام شد. در این مطالعه ایزوله‌های انتروکوکوس فکالیس با منشا ادرار و خون از بیماران مبتلا به عفونت ادراری و عفونت جریان خون کسب شده از بیمارستان جداسازی شدند. تست آنتی بیوگرام به روش دیسک دیفیوژن و Etest برای سنجش میزان مقاومت این ایزوله‌ها انجام شد.

یافته‌ها: از ۵۳ ایزوله انتروکوکوس فکالیس جداسازی شده تعداد ۴۶ ایزوله (۸۶/۸٪) با منشا ادرار و تعداد ۷ ایزوله (۱۳/۲٪) با منشا خون بودند. حساس‌ترین آنتی‌بیوتیک برای این ایزوله‌ها به ترتیب لینزولید (۵۲٪)، ونوکومايسين (۴۷٪) و مقاوم‌ترین آنتی‌بیوتیک به این ایزوله‌ها جنتامایسین (۴۳٪) و ریفاپمپین (۳۴٪) گزارش گردید.

نتیجه‌گیری: مقاومت انتروکوکوس فکالیس به آنتی‌بیوتیک‌ها در حال افزایش است. بنابراین پایش دوره‌ای الگوی مقاومت این باکتری می‌تواند کمک شایانی به درمان موثر و کاهش هزینه‌ها نماید.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: دانشگاه علوم پزشکی ایران

شیوه استناد به این مقاله:

Minaeian S, Talebi-Taher M, Pourasgari E, Dadgar M, Zebhi Z. Investigation of phenotypic resistance pattern of *Enterococcus faecalis* isolated from blood and urine samples of patients admitted to Rasoul Akram Hospital, Tehran. Razi J Med Sci. 2020;27(6):103-112.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با [CC BY-NC-SA 3.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/) صورت گرفته است.

Original Article

Investigation of phenotypic resistance pattern of *Enterococcus faecalis* isolated from blood and urine samples of patients admitted to Rasoul Akram Hospital, Tehran

Sara Minaeian, Antimicrobial Resistance Research Center, Institute of immunology and infectious diseases, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Mahshid Talebi-TaHER, Antimicrobial resistance research center, Institute of immunology and infectious diseases, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (*Corresponding author) talebitaHER.m@iums.ac.ir

Esmail Pourasgari, Infectious Diseases Department, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Mahsa Dadgar, Antimicrobial Resistance Research Center, Institute of immunology and infectious diseases, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Zohresadat Zebhi, Infectious Diseases Department, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Background: Nosocomial infections can be a major challenge for medical staff and health care providers when it comes to antibiotic-resistant bacteria. *Enterococcus faecalis* is one of the bacteria that play an important role in nosocomial infection. Therefore, it is important to study the prevalence and pattern of resistance of this bacterium in medical centers, especially in hospitals. Inappropriate use of antibiotics has led to the increasing spread of resistant bacteria. Enterococci are now considered not only for their role in nosocomial infections but also for their increasing resistance. The parts of the body that are most infected with this bacterium are the urinary tract and blood. Enterococcal infections are very common in patients with vascular and urinary catheters, and in patients who have been hospitalized for a long time and have taken broad-spectrum antibiotics. The aim of this research was study of phenotypic resistance pattern of *E. faecalis* isolated from blood and urine samples of patients admitted to Rasoul Akram General Teaching Hospital.

Methods: This case series study was performed from February 2019 to January 2020 at Rasoul Akram Hospital in Tehran. The origin of the isolated *E. faecalis* was urine and blood which were isolated from patients with urinary tract infection and bloodstream infection from the hospital. The grown bacteria were evaluated by catalase test, then gram-positive catalase negative cocci were examined by L-pyrrolidonyl-beta-naphthylamide (PYR) hydrolysis (BY), bi-scolin, salt tolerance tests of 6.5%. Then biochemical tests were performed to detect *E. faecalis*, which included motion test, 0.04% tellurium reduction and pigment production test. *E. faecalis* isolates were isolated after biochemical tests. Antibiogram test was performed using disc diffusion method and E-test to measure the resistance of these isolates. Antibiogram test by disk diffusion method using discs (gentamicin 10 mg), (erythromycin 15 mg), (ampicillin sulbactam 10 + 10 mg), (ampicillin 10 mg), (penicillin 10 mg), (ticoplanin 30 mg), (Rifampin 50 mg), (30 mg linezolid) from HiMedia India. The bacterial suspension was prepared from fresh culture of *E. faecalis* with half McFarland turbidity and cultured on Müller-Hinton agar medium. Antibiotic discs were then placed on Müller-Hinton agar medium. Vancomycin E-Test: Some bacterial colonies were removed from fresh culture by ounce and dissolved in sterile physiological saline and concentrated to half McFarland concentration. After the bacterial suspension was completely absorbed into the medium, a strip containing the vancomycin concentration gradient was placed on Müllerhinton agar medium using a pair of sterile forceps and the culture medium was kept in a 37 ° C oven for 24 hours. By examining the plates, the number in front of

Keywords

Nosocomial infections,
Antimicrobial resistance,
Enterococcus faecalis

Received: 02/05/2020

Published: 12/09/2020

the intersection of the non-growth halo with the E-Test strip was considered as a small amount of the minimum concentration of growth inhibitor.

Results: From 53 isolated *E. faecalis*, 46 samples (86.8%) were isolated from the urine and 7 samples (13.2%) were isolated from the blood. The source of isolation of *E. faecalis* was blood and urine samples from nephrology, surgical ICU, neurosurgery, transplantation, inpatient emergency, MICU, general surgery, ICU, orthopedics, internal medicine and neurological ICU wards. The most sensitive antibiotics for these isolates were Linezolid (52), 98.1%, Vancomycin (47), 88.7%, respectively and the most resistant antibiotics to these isolates were Gentamicin antibiotic (43), 81.1%, and rifampin (34), 64.2%.

Conclusion: Annual nosocomial infections kill many patients around the world. Excessive use of antibiotics in medicine and agriculture has led to the development of multidrug-resistant bacteria, which are now recognized as one of the leading causes of nosocomial infections. In addition to high patient mortality, imposing high economic costs on patients and hospitals and medical centers is another consequence of microbial resistance. Enterococci are one of the most important causes of nosocomial infections, especially in intensive care units. These bacteria can be easily transmitted from one patient to another in a hospital through medical staff. In patients, the most common sites of enterococcal infection are the urinary tract, blood, and ulcers.

In a study conducted by Ghasemi et al., on multidrug resistance of *E. faecalis* in two hospitals of Kashan, no resistance to linezolid antibiotic was observed in these isolates. In another study conducted by Najafi et al., on enterococcal antibiotic resistance in Hamadan teaching hospitals, no resistance to linezolid antibiotics was observed. Loza et al., in Spain showed that 100% of isolated enterococcal isolates were sensitive to linezolid, vancomycin and ampicillin. In this study, the most sensitive antibiotic against *E. faecalis* isolates was Linezolid, which is consistent with the studies mentioned above. In a study by Al-Harhi et al., on the pattern of antibiotic resistance of *E. faecalis* from 2003 to 2006, resistance to gentamicin was 89.6%. In this study, *E. faecalis* isolates had the highest resistance (81.1%) to the antibiotic gentamicin, which could be a warning to the physicians in prescribing this drug. In a study by Ghasemi et al., in Kashan resistance to penicillin antibiotic was 29.2%. In another study conducted by Yousefi et al., on antibiotic resistance of enterococci in Ghaem Hospital of Mashhad, resistance to penicillin antibiotic was 54.5%. In the present study, resistance to penicillin antibiotics in enterococci was 54.7%. In another study conducted by Hosseinizadeh et al., on the pattern of enterococcal resistance in Arak teaching hospitals, resistance to vancomycin antibiotic by MIC method was 14.66%. In another study conducted in India in 2013 by Suddhanshu et al., out of a total of 150 samples collected from different wards of the hospital, only 5 isolates were *E. faecalis* resistant to vancomycin. A study conducted by Arbabi et al., in 2015 in Rasool Akram and Milad hospitals in Tehran, out of 149 isolated Enterococcus specimens, 60% of the specimens were *E. faecalis* isolates. The highest resistance (77.1%) based on disk diffusion test against gentamicin antibiotic and the lowest resistance (28%) based on MIC test against vancomycin antibiotic was observed. In this study, the resistance of *E. faecalis* to the antibiotic vancomycin, which was performed by Etest method, was reported to be 11.3%, which is less than the study of Nikoei et al., Hosseinizadeh et al., and Arbabi et al.

Conclusion: The resistance of *E. faecalis* to antibiotics is increasing. Therefore, periodic monitoring of the resistance pattern of this bacterium can help effectively treatment of patients and reduce treatment costs. *E. faecalis* and Enterococcus faecium are inherently resistant to certain antibiotics, including cephalosporins, aminoglycosides, clindamycin, and fusidic acid.

Conflicts of interest: None

Funding: Iran University of Medical Sciences

Cite this article as:

Minaeian S, Talebi-Taher M, Pourasgari E, Dadgar M, Zebhi Z. Investigation of phenotypic resistance pattern of *Enterococcus faecalis* isolated from blood and urine samples of patients admitted to Rasoul Akram Hospital, Tehran. Razi J Med Sci. 2020;27(6):103-112.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

مقدمه

انتروکوکوس‌ها میکروارگانیزم‌هایی گرم مثبت و بی‌هوازی اختیاری هستند که علاوه بر اینکه فلور نرمال دستگاه گوارش ۹۰ درصد افراد سالم می‌باشند به عنوان سومین عامل ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی بعد از اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس به شمار می‌روند. از میان گونه‌های مختلف مربوط به جنس انتروکوکوس، انتروکوکوس فکالیس شایع‌ترین آنها به شمار می‌رود و در حدود ۸۵ تا ۹۰ درصد از عفونت‌های انتروکوکوسی را شامل می‌شود (۱-۳). این باکتری عامل طیف وسیعی از بیماری‌ها مانند عفونت ادراری، باکتریمی، اندوکاردیت کسب شده در جامعه و یا بیمارستان می‌باشد. علاوه بر افزایش فزاینده عفونت‌های انتروکوکوسی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی این میکروارگانیزم‌ها در برابر عوامل ضد میکروبی در سطح جهان نیز افزایش چشمگیری داشته است (۴). تخمین زده شده است این باکتری مسئول ۲۵ تا ۵۰٪ مرگ و میر در بیماران بستری در بیمارستان می‌باشد (۵).

همان‌طور که ذکر شد گونه‌های انتروکوک به عنوان یکی از مهمترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی به شمار می‌آیند. بر اساس تحقیقات انجام شده در ایالات متحده این باکتری چهارمین عامل عفونت‌های بیمارستانی، سومین عامل عفونت‌های باکتریمی و دومین عامل عفونت‌های ادراری می‌باشند (۶). نقاطی از بدن که بیشتر دچار عفونت با این باکتری می‌شوند دستگاه ادراری و خون می‌باشد. در بیمارانی که دارای کاتترهای رگی و ادراری هستند و بیمارانی که مدت زیادی در بیمارستان بستری بوده و آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف مصرف نموده‌اند عفونت‌های ناشی از انتروکوک‌ها بسیار شایع می‌باشد. آندوکاردیت، یکی از عوارض شدید باکتریمی انتروکوکوسی است که میزان مرگ و میر بالایی دارد (۳، ۷).

انتروکوک‌ها می‌توانند در صورت عدم شستشوی مناسب به طور عمده توسط دست کارکنان بیمارستان از بیماری به بیمار دیگر منتقل شود و در صورت مقاوم شدن به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توانند در دستگاه گوارش بیماران و کارکنان بیمارستان کلونیزه شده و دائم در حال انتشار باشند (۸). مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به گسترش روزافزون باکتری‌های مقاوم شده

است. امروزه انتروکوکوس‌ها نه فقط به علت نقششان در عفونت بیمارستانی بلکه به دلیل مقاومت روبه‌افزایششان مورد توجه قرار گرفته‌اند. از جمله شایع‌ترین انتروکوک‌ها در عفونت‌های بیمارستانی انتروکوکوس فاسیوم و انتروکوکوس فکالیس می‌باشد. انتروکوکوس فاسیوم نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومتر از انتروکوکوس فکالیس می‌باشد از سوی دیگر فراوانی انتروکوکوس فکالیس از انتروکوکوس فاسیوم در محیط‌های بهداشتی و بیمارستان‌ها بیشتر می‌باشد (۹). در این مطالعه هدف بررسی الگوی مقاومت فنوتیپی انتروکوک‌های جداسازی شده از نمونه‌های خون و ادرار بیماران بستری در بیمارستان رسول اکرم (ص) با تشخیص عفونت‌های بیمارستانی ادرار و جریان خون می‌باشد.

روش کار

این مطالعه مقطعی - زمانی (Case series) از بهمن ۹۷ تا دی ماه ۹۸ در بیمارستان رسول اکرم (ص) انجام شد. ۲۱۰ نمونه از بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان رسول اکرم (ص) جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه مرکز تحقیقات مقاومت‌های میکروبی پژوهشکده ایمونولوژی و بیماری‌های عفونی بیمارستان رسول اکرم (ص) بر روی پلیت‌های شوکلات آگار و بلاد آگار کشت داده شدند. منشا ایزوله‌های جداسازی شده شامل نمونه‌های خون و ادرار بود که از بخش‌های نفرولوژی، SICU، Neurosurgery، پیوند، اورژانس بستری، MICU، جراحی عمومی، ICU، ارتوپدی، داخلی و Neuro ICU جداسازی شده بودند.

عفونت با منشا خون حداقل می‌بایست یکی از موارد زیر را در بر بگیرد:

- وجود میکروارگانیزم در شریان‌ها یا وریدها که توسط کشت میکروبی یا از طریق دیگر روش‌های تست میکروبی تأیید شده باشد.

- بیمار شواهدی از عفونت شریان‌ها یا وریدها را در معاینه بالینی یا آناتومیک و یا از نظر هیستوپاتولوژی، بافت‌شناسی یا پاتولوژی نشان دهد.

- بیمار حداقل یکی از علائم یا نشانه‌های زیر را داشته باشد.

MRI و اسکن هسته ای نشان دار شده با گالیوم یا تکنسیوم

برای بیماران با سن ۱ سال و کوچکتر نیز حداقل می‌بایست یکی از علائم زیر را داشته باشند.

- تب بیش از ۳۸ درجه

- افت دمای بدن کمتر از ۳۶ درجه

- قطع تنفس

- کاهش تعداد ضربان قلب

- گیجی

- استفراغ

- و حداقل یکی از موارد زیر

الف: ترشحات چرکی از محل درگیر

ب: شناسایی ارگانیزم هایی در خون از طریق کشت میکروبی یا از طریق دیگر روش های میکروبیولوژیکی و آزمایشات تصویربرداری که علائمی دال بر عفونت داشته باشند و با یافته های بالینی نیز منطبق باشند. برای مثال سونوگرافی، سیتی اسکن، MRI و اسکن هسته ای نشان دار شده با گالیوم یا تکنسیوم (۱۰).

سپس باکتری های رشد یافته رنگ آمیزی گرم شده و توسط تست کاتالاز مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس کوکسی های گرم مثبت کاتالاز منفی توسط تستهای هیدرولیز آل- پیرولیدونیل- بتا- نفتیل آمید (PYR)، بایل اسکولین، تحمل نمک ۶/۵٪ مورد بررسی قرار گرفتند. سپس تست های بیوشیمیایی جهت تشخیص گونه /انتروکوکوس فکالیس که شامل آزمون حرکت، احیا تلوریت 0.04 درصد و تست تولید پیگمان بود انجام شد. پس از انجام تست های بیوشیمیایی ایزوله‌های /انتروکوکوس فکالیس جداسازی شد.

تست آنتی بیوگرام به روش دیسک دیفیوژن: تست آنتی بیوگرام به روش دیسک دیفیوژن و با استفاده از دیسک‌های (جنتامایسین ۱۰ mg)، (اریترومایسین ۱۵ mg)، (آمپی سیلین سولباکتام ۱۰+۱۰ mg)، (آمپی سیلین ۱۰ mg)، (پنی سیلین ۱۰ mg)، (تیکوپلانیل ۳۰ mg)، (ریفامپین ۵۰ mg)، (لینزولید ۳۰ mg) از شرکت HiMedia از کشور هند تهیه شد. سوسپانسیون باکتری از کشت تازه انتروکوکوس فکالیس و با کدورت نیم مک فارلند تهیه شد و بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. سپس دیسک های آنتی بیوتیکی بر روی محیط مولر هینتون آگار قرار داده شد. فاصله

-تب بیش از ۳۸ درجه

- درد یا قرمزی یا وجود و یا گرم شدن محل درگیری عروق

- وجود بیش از ۱۵ کلنی در کشتی که از نوک ابزار داخل عروق به روش کشت کمی و نیمه کمی حاصل شده باشد.

- بیمار دارای ترشح چرکی از محل درگیری عروق داشته باشد.

- بیمارانی با سن ۱ سال و کمتر از یکسال نیز حداقل می‌بایست دارای یکی از علائم زیر باشند.

- تب بیش از ۳۸ درجه

- افت دمای بدن کمتر از ۳۶ درجه

- ایست تنفسی

- کاهش تعداد ضربان قلب، گیجی، قرمزشدگی یا گرم بودن محل عروق درگیر

- وجود بیش از ۱۵ کلنی در کشتی که از نوک کانولای داخل عروقی به روش کشت نیمه کمی حاصل شده باشد.

- بیمار دارای ترشح چرکی از محل درگیری عروق داشته باشد.

عفونت با منشا عفونت دستگاه ادراری حداقل می‌بایست یکی از موارد زیر را در بر بگیرد:

- شناسایی میکروارگانیزم در مایعات (به جز ادرار) و یا بافت درگیر که توسط کشت میکروبی یا از طریق دیگر روش های میکروبیولوژیکی که به منظور تشخیص و یا درمان کلینیکی انجام شده باشد.

- وجود آبه یا دیگر علائمی از عفونت در بیمار که از طریق آزمایشات آناتومیکال، بافت شناسی، پاتولوژی و یا هیستوپاتولوژی ثابت شده باشد

- بیمار دارای یکی از علائم زیر باشد:

-تب بالای ۳۸ درجه

- وجود درد یا حساسیت موضعی

- حداقل یکی از موارد زیر:

الف: ترشحات چرکی در محل درگیر

ب: شناسایی ارگانیزم هایی در خون از طریق کشت میکروبی یا از طریق دیگر روش های میکروبیولوژیکی و آزمایشات تصویربرداری که علائمی دال بر عفونت داشته باشند و با یافته های بالینی نیز منطبق باشند برای مثال سونوگرافی، سیتی اسکن،

آنالیز داده‌ها: تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS-23 در سطح معنی دار ۰/۰۵ انجام گرفت.

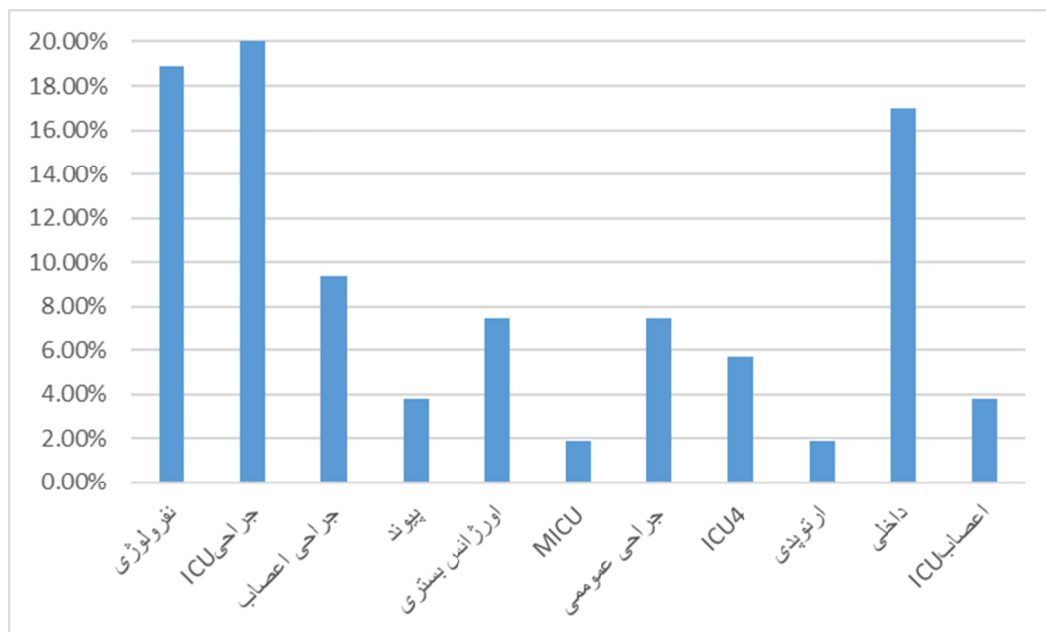
یافته‌ها

از مجموع ۲۱۰ نمونه بدست آمده از بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان ۵۳ ایزوله/انتروکوک فکالیس با انجام تست‌های بیوشیمیایی جداسازی شد. منشا جداسازی ایزوله‌های انتروکوکوس فکالیس شامل نمونه‌های خون و ادرار بود که از بخش‌های نفرولوژی، ICU جراحی، جراحی اعصاب، پیوند، اورژانس بستری، MICU، جراحی عمومی، ICU، ارتوپدی، داخلی و ICU اعصاب جداسازی شدند.

از تعداد ۵۳ ایزوله انتروکوکوس فکالیس جداسازی شده از بیماران با تشخیص عفونت‌های بیمارستانی ذکر شده در قسمت روش کار تعداد ۴۶ ایزوله (۸۶/۸٪) با منشا ادرار و تعداد ۷ ایزوله (۱۳/۲٪) با منشا خون جداسازی شد. از این تعداد بیمار ۲۶ نفر (۴۹/۱٪) زن و ۲۷ نفر (۵۰/۹٪) مرد بودند که میانگین سنی این افراد ۱۸/۱۸ ± ۵۳/۱۶ سال بود و میان سن ۵۶ سال گزارش گردید. جوانترین و پیرترین بیمارانی که از نمونه ادرار آنها ایزوله انتروکوکوس فکالیس جداسازی شد ۱۰ ساله در بخش پیوند و ۸۸ ساله در بخش SICU بودند. پس از بررسی‌های انجام شده مشخص گردید بخش

دیسک‌ها از یکدیگر و دیواره حدود ۱۲ میلی متر تنظیم شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، انکوبه گشت. پس از ۲۴ ساعت قطر هاله‌ها توسط خط کش اندازه‌گیری شد و جهت تعیین مقاومت با جدول استاندارد CLSI 2019 مقایسه گردید. از ایزوله ۲۹۲۱۲ ATCC به عنوان کنترل طبق توصیه CLSI به منظور استانداردسازی تست آنتی بیوگرام استفاده شد.

- تست E-Test ونکومایسین: مقداری از کلونی باکتری را از روی کشت تازه به وسیله انس برداشته و در سرم فیزیولوژی استریل حل شد و غلظت به غلظت نیم مک فارلند رسانده شد. بعد از تهیه سوسپانسیون میکروبی یکنواخت، توسط سواب آغشته به محلول و آب‌گیری شده در محیط مولر هینتون آگار کشت چمنی داده شد. بعد از این که سوسپانسیون باکتری کاملاً جذب محیط شد به کمک یک پنس استریل، نوار حاوی گرادیان غلظت ونکومایسین بر روی محیط مولر هینتون آگار قرار داده شد و محیط کشت به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. با بررسی پلیت‌ها عددی که در مقابل محل تلاقی هاله عدم رشد با نوار E-Test قرار داشت به عنوان مقدار کمی حداقل غلظت مهارکنندگی رشد در نظر گرفته شد.



نمودار ۱- فراوانی ایزوله‌های انتروکوکوس فکالیس جداسازی شده از بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان

جدول ۱- فراوانی الگوی مقاومت و حساسیت ایزوله های انتروکوکوس فکالیس به تفکیک آنتی بیوتیک

آنتی بیوتیک	روش آنتی بیوگرام	مقاوم	حدواسط	حساس
لینزولید	دیسک دیفیوژن	٪۱/۹(۱)	-	٪۹۸/۱ (۵۲)
جتنامایسین	دیسک دیفیوژن	٪۸۱/۱(۴۳)	٪۷/۵ (۴)	٪۱۱/۳ (۶)
آمپی سیلین سولباکتام	دیسک دیفیوژن	٪۵۲/۸ (۲۸)	-	٪۴۷/۲ (۲۵)
آمپی سیلین	آمپی سیلین	٪۵۴/۷ (۲۹)	-	٪ ۴۵/۳(۲۴)
پنی سیلین	دیسک دیفیوژن	٪۵۴/۷(۲۹)	-	٪۴۵/۳ (۲۴)
تری متوپریم سولفامتوکسازول	دیسک دیفیوژن	٪۴۷/۲(۲۵)	-	٪۵۲/۸ (۲۸)
ریفامپین	دیسک دیفیوژن	٪۶۴/۲(۳۴)	٪۱۸/۹(۱۰)	٪۱۷(۹)
ونکومایسین	Etest	٪۱۱/۳(۶)	-	٪۸۸/۷(۴۷)

خصوصاً در بخش های مراقبت ویژه می باشند. این باکتری ها می توانند به راحتی از طریق پرسنل درمانی از بیماری به بیمار دیگر در بیمارستان منتقل شوند. در بیماران ، شایع ترین مکانهای عفونت انتروکوکوسی دستگاه ادراری ، خون و زخم می باشد. مقاومت آنتی بیوتیکی در میان انتروکوک ها در جهان رو به افزایش است که علت عمده آن استفاده روزافزون و نابجا از آنتی بیوتیکها می باشد (۱۲، ۱۳).

در این مطالعه ۲۱۰ نمونه از بیماران بستری در بخش های مختلف بیمارستان رسول اکرم (ص) گرفته شد که ۵۳ نمونه آن ایزوله های انتروکوکوس فکالیس بودند. از تعداد ۵۳ ایزوله انتروکوکوس فکالیس جداسازی شده از بیماران تعداد ۴۶ ایزوله (٪۸۶/۸) با منشا ادرار و تعداد ۷ ایزوله (٪۱۳/۲) با منشا خون جداسازی شد. پس از بررسی های انجام شده مشخص گردید بخش ICU جراحی دارای بیشترین فراوانی ایزوله های انتروکوکوس فکالیس (٪۲۲/۶) و کمترین فراوانی (٪۱/۹) در بخش های MICU و ارتوپدی مشاهده گردید.

دو گونه انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فاسیوم ذاتاً در برابر برخی آنتی بیوتیک ها از جمله سفالوسپورین ها ، آمینوگلیکوزیدها ، کلیندامایسین و اسید فوزیدیک مقاوم هستند علاوه بر این ، از طریق جهش و انتقال افقی ژن ها انتروکوک ها می توانند مکانیسم های مقاومت بیشتری را در برابر آنتی بیوتیکها کسب نمایند (۱۴). در مطالعه ای که توسط قاسمی و همکاران روی مقاومت چند دارویی انتروکوکوس فکالیس در دو بیمارستان کاشان صورت گرفت هیچ مقاومتی نسبت به آنتی بیوتیک لینزولید در این ایزوله ها مشاهده نشد (۱۵). در مطالعه دیگری که

ICU جراحی با فراوانی ٪۲۲/۶ دارای بیشترین فراوانی ایزوله های انتروکوکوس فکالیس و کمترین فراوانی (٪۱/۹) در بخش های MICU و ارتوپدی مشاهده گردید. اطلاعات دیگر بخش ها در نمودار ۱ نشان داده شده است.

الگوی مقاومت و حساسیت ایزوله های انتروکوکوس فکالیس برای تمام آنتی بیوتیک ها به جز ونکومایسین به روش دیسک دیفیوژن برای آنتی بیوتیک ونکومایسین به روش Etest انجام شده است. (در جدول ۱ نشان داده شده است بیشترین مقاومت در ایزوله های انتروکوکوس فکالیس به ترتیب در آنتی بیوتیک جنتامایسین (۴۳) ٪۸۱/۱ و ریفامپین (۳۴) ٪۶۴/۲ گزارش گردید. این ایزوله ها نسبت به آنتی بیوتیک های لینزولید (۵۲) ٪۹۸/۱ و ونکومایسین (۴۷) ٪۸۸/۷ دارای بیشترین حساسیت بودند. الگوی حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله ها در جدول ۱ نمایش داده شده است.

بحث و نتیجه گیری

عفونت های بیمارستانی سالانه جان بسیاری از بیماران را در سراسر جهان می گیرد. استفاده بیش از حد از آنتی بیوتیک ها در پزشکی و کشاورزی منجر به ایجاد باکتری های مقاوم به چند دارو شده است که اکنون به عنوان یکی از دلایل عمده عفونت های بیمارستانی شناخته می شوند. علاوه بر مرگ و میر بالای بیماران تحمیل هزینه های اقتصادی بالا به بیمار و بیمارستان ها و مراکز درمانی از دیگر پیامدهای مقاومت های میکروبی می باشد (۱۱). انتروکوک ها جز مهمترین عوامل ایجاد کننده عفونت های بیمارستانی

حال افزایش است (۲۲). در مطالعه ایی که توسط نیکوئی و همکاران روی مقاومت دارویی/انتروکوک در بیمارستان الزهرا اصفهان صورت گرفت مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ونکومایسین به روش E-Test، ۲۵ درصد مشاهده شد (۲۳). در مطالعه دیگری که توسط حسینی زاده و همکاران روی الگوی مقاومت/انتروکوک در بیمارستان های آموزشی اراک صورت گرفت مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ونکومایسین که با روش MIC انجام گرفت ۱۴/۶۶٪ مشاهده شد (۲۴). در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۱۳ در کشور هند توسط Suddhanshu و همکاران انجام گرفت، از مجموع ۱۵۰ نمونه جمع آوری شده از بخش های مختلف بیمارستان تنها ۵ ایزوله از میان ایزوله های انتروکوکوس فکالیس، مقاوم به ونکومایسین بودند شایان ذکر است آنتی بیوگرام در مطالعه ذکر شده به روش MIC (آگار دایلوشن) انجام شده است (۲۵). در مطالعه ای که توسط اربابی و همکاران در سال ۹۴ در بیمارستان های رسول اکرم (ص) و میلاد انجام شد از ۱۴۹ نمونه انتروکوک جداسازی شده ۶۰٪ نمونه ها ایزوله های انتروکوکوس فکالیس بودند. بیشترین مقاومت (۷۷/۱٪) بر اساس تست دیسک دیفیوژن نسبت به آنتی بیوتیک جنتامایسین و کمترین میزان مقاومت (۲۸٪) بر اساس تست MIC (آگاردایلوشن) نسبت به آنتی بیوتیک ونکومایسین در ایزوله های انتروکوکوس فکالیس مشاهده شد (۲۶). در این مطالعه نیز مقاومت انتروکوکوس فکالیس نسبت به آنتی بیوتیک ونکومایسین که به روش Etest انجام شد، ۱۱/۳٪ گزارش گردید که کمتر از مطالعه نیکوئی و همکاران و حسینی زاده و همکاران و اربابی و همکاران می باشد. در واقعه علت این اختلاف ها می تواند به دلیل انتخاب روش های مختلف تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله های جداسازی شده و یا تفاوت در حجم نمونه، سن و جنس بیماران باشد.

اخیراً مشاهده شده است ایزوله های انتروکوک می توانند خوسه های ژن مقاومت به ونکومایسین به دیگر باکتری های بیماری زا مانند استاف اورئوس های مقاوم به متی سیلین (MRSA) انتقال دهند که این پدیده می تواند تهدید جدی در درمان موثر بیماری ها و افزایش هزینه های درمان به همراه داشته باشد (۲۷).

توسط نجفی و همکاران روی مقاومت آنتی بیوتیکی/انتروکوک در بیمارستان های آموزشی همدان صورت گرفت نیز هیچ مقاومتی نسبت به آنتی بیوتیک لینزولید مشاهده نشد (۱۶). Loza و همکاران در اسپانیا نشان دادند که ۱۰۰ درصد ایزوله های انتروکوک جداسازی شده به لینزولید، ونکومایسین و آمپی سلین حساس بودند (۱۷). در این مطالعه نیز حساسترین آنتی بیوتیک در برابر ایزوله های انتروکوکوس فکالیس آنتی بیوتیک لینزولید با درصد فراوانی ۱/۹٪ مشاهده شد که نتایج منطبق با مطالعات ذکر شده در بالا می باشد. در مطالعه ایی که توسط Al-Harathi و همکاران روی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی/انتروکوکوس فکالیس از سال ۲۰۰۳ تا ۲۰۰۶ صورت گرفت مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک جنتامایسین ۸۹/۶٪ مشاهده شد (۱۸). تحقیقات نشان داده است ظهور سریع مقاومت ایزوله های انتروکوکوس فکالیس به آنتی بیوتیک جنتامایسین در چند دهه اخیر پیامدهای جدی برای بیماران مبتلا به بیماری های ناشی از این باکتری خواهد داشت (۱۹). در این مطالعه نیز ایزوله های انتروکوکوس فکالیس بیشترین مقاومت (۸۱/۱٪) را نسبت به آنتی بیوتیک جنتامایسین داشتند که می تواند هشدار برای کادر درمان در تجویز این دارو باشد. در مطالعه ایی که توسط قاسمی و همکاران روی مقاومت چند دارویی/انتروکوکوس فکالیس در دو بیمارستان کاشان صورت گرفت مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک پنی سیلین ۲۹/۲ درصد مشاهده شد (۲۰). در مطالعه دیگری که توسط یوسفی و همکاران روی مقاومت آنتی بیوتیکی/انتروکوک ها در بیمارستان قائم مشهد صورت گرفت مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک پنی سیلین ۵۴/۵ درصد مشاهده شد (۲۱). در مطالعه حاضر نیز مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک پنی سیلین در انتروکوک ها ۵۴/۷ درصد مشاهده شد.

انتروکوک های مقاوم به ونکومایسین به عنوان یکی از مهمترین عوامل عفونتهای بیمارستانی در بیماران با حال وخیم و دارای ضعف ایمنی شناخته می شود که می توانند منجر به بیماری های جدی مانند عفونت های ادراری، اندوکاردیت، باکتری می و غیره شوند. همچنان میزان بروز عفونت های ناشی از انتروکوک های مقاوم به ونکومایسین در تمام دنیا در

4. Khosravi N, Heravi FS, Tabasi M, Badamchi A, Minaeian S, Javadinia S, et al. Detection of fluoroquinolone genes and spread of antibiotic resistance profile of Enterococcus strains isolated from clinical specimens. *Gene Res.* 2020;19:1-6.
5. van Harten RM, Willems RJ, Martin NI, Hendrickx APA. Multidrug-resistant enterococcal infections: new compounds, novel antimicrobial therapies? *Trend Microbiol.* 2017;25(6):467-79.
6. Ghaffarpasand I, Moniri R. The prevalence of fecal carriage of antibiotic resistant enterococci among hospitalized patients in Shahid beheshti hospital, Kashan, Iran at 2007. *Kamus J (Feyz).* 2010;14(1):70-5.
7. Hayes JR, McIntosh AC, Qaiyumi S, Johnson JA, English LL, Carr LE, et al. High-Frequency Recovery of Quinupristin-Dalfopristin-Resistant Enterococcus faecium Isolates from the Poultry Production Environment. *J Clin Microbiol.* 2001;39(6):2298-9
8. Murray BE. Vancomycin-resistant enterococcal infections. *Am J Med.* 2000;342(10):284-93.
9. Jabbari Shiadeh SM, Pormohammad A, Hashemi A, Lak P. Global prevalence of antibiotic resistance in blood-isolated Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium: a systematic review and meta-analysis. *Infect Drug Resist.* 2019;12:2713-25.
10. CDC. CDC/NHSN surveillance definitions for specific types of infections. 2020:1-17.
11. Wang M, Wei H, Zhao Y, Shang L, Di L, Lyu C, et al. Analysis of multidrug-resistant bacteria in 3223 patients with hospital-acquired infections (HAI) from a tertiary general hospital in China. *Bosn J Basic Med Sci.* 2019;19(1):86-93.
12. Jabbari-Shiade SM, Moniri R, Khorshidi A, Saba MA, Mousavi SGA, Salehi M. Evaluation of the prevalence of vancomycin-resistant enterococci strains isolated from patients in the ICU in Kashan. *J Microbial World.* 2012;5(1,2):59-65.
13. Olawale KO, Fadiora SO, Taiwo SS. Prevalence of hospital acquired enterococci infections in two primary-care hospitals in Osogbo, Southwestern Nigeria. *Afr J Infect Dis.* 2011;5(2):40-6.
14. Kateete DP, Edolu M, Kigozi E, Kisukye J, Baluku H, Mwiine FN, et al. Species, antibiotic susceptibility profiles and van gene frequencies among enterococci isolated from patients at Mulago National Referral Hospital in Kampala, Uganda. *BMC Infect Dis.* 2019;19(1):468.
15. Ghasemi A, Moniri R, Mosavi SGh. [Investigation of multidrug resistance in enterococcus faecalis strains isolated from clinical samples in Shahid Beheshti Hospital and Kashan shabihkhani maternity hospital in 1387]. *Iran J Med Microbiol* 2009;3(3):21-26 (Persian)
16. Najafi Mosleh M, Nasaj M, Rahimi F, Arabestani MR. Distribution rates and antibiotic

میزان انتقال ژن های مقاومت به ونکومايسين در ایزوله های انتروکوکوس فکالیس به مراتب بیش از ایزوله‌های انتروکوکوس فاسیوم می باشد (۲۸). یافته‌ها نشان می‌دهد که مقاومت در باکتری انتروکوکوس فکالیس در حال افزایش می‌باشد و از آنجایی که این باکتری نقش مهمی در ایجاد عفونت بیمارستانی دارند، بنابراین توجه به شیوع و فراوانی سویه های مقاوم بسیار مهم و ضروری می‌باشد. پایش دوره ای این میکروارگانیسم که به صورت فلور نرمال در دستگاه گوارش برخی از پرسنل وجود دارد نیز می‌تواند از انتقال آن و کسب ژن‌های جدید مقاومت توسط این باکتری جلوگیری نماید.

این مقاله دارای محدودیت‌هایی از جمله تعداد کم موارد و بررسی در یک مرکز می‌باشد و باید مطالعه چند مرکزی برای تعیین دقیق مقاومت انجام شود.

تقدیر و تشکر

این مقاله خلاصه ای است از پایان نامه دکتر اسماعیل پورعسگری برای دریافت گواهینامه دوره تخصصی بیماری‌های عفونی و گرمسیری به راهنمایی دکتر مهشید طالبی طاهر و دکتر سارا مینائیان می‌باشد (کد طرح ۳۳۷۲۴-۱۳۴-۰۲-۹۷ و کد اخلاق IR.IUMS.REC.1397.615). با تشکر از تمامی کارکنان مرکز تحقیقات مقاومت میکروبی پژوهشکده ایمنولوژی و بیماری‌های عفونی دانشگاه علوم پزشکی ایران که در انجام این پروژه ما را یاری دادند و با تشکر از کمک مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی ایران برای انجام این پروژه.

References

1. Duprè I, Zanetti S, Schito AM, Fadda G, Sechi LA. Incidence of virulence determinants in clinical Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis isolates collected in Sardinia (Italy). *J Clin microbiol.* 2003;52(6):491-8.
2. Marothi YA, Agnihotri H, Dubey D. Enterococcal resistance-an overview. *Indian J Med Microbiol.* 2005;23(4):214-9.
3. Iversen A, Kühn I, Franklin A, Möllby R. High prevalence of vancomycin-resistant enterococci in Swedish sewage. *App Environ Microbiol.* 2002;68(6):2838-42.

- resistance pattern of *Enterococcus* Spp. isolated from clinical specimens of hospitals in hamedan. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2014;24(117):92-102.
17. Loza E, Morosini MI, Pascual A, Tubau F, Alcalá J, Liñares J, et al. Comparative in vitro activity of daptomycin against gram-positive microorganisms: SENTRY surveillance program, Spain (2002-2006). *Eur PMC*. 2008;26(8):489-94.
18. Al-Harathi AA, Al-Fifi SH. Antibiotic resistance pattern and empirical therapy for urinary tract infections in children. *Saudi Med J*. 2008;29(6):854-8.
19. Forward KR, Kennedy JK, Degagne PA, Bartlett KR, Harding GK. The rapid emergence of high level gentamicin resistance in enterococci. *CAN J Infect Dis*. 1990;1(3):97-100.
20. Ghasemi A, Moniri R, Khorshidi A, Musavi GA. The survey of virulence factors of *Enterococcus faecalis* isolated from urine samples. *Iranian J Med Microbiol*. 2009;2(3):53-8.
21. Yousefi varvand A, Meshkat Z, Khademi F. Investigation of Antibiotic resistance profiles of *Enterococci* isolated from different clinical specimens in Qaem hospital, Mashhad. *J Tobat Heydarieh Med Sci*. 2016;4(3):48-54.
22. Chang S, Sievert DM, Hageman JC, Boulton ML, Tenover FC, Downes FP, et al. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the van A resistance gene. *N Engl J Med*. 2003;348(14):1342-7.
23. Nikooei M, Meidani M, Khorvash F, Karimi M, Parsaei P. Evaluation of the frequency of phenotype and genotype of Van A and Van B genes in vancomycin resistant enterococcus isolated from clinical sample of Alzahra Hospitals in Isfahan. *J Sharekord Univ Med*. 2014;16(3):61-9.
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. *J Arak Uni Med Sci*. 2012;15(6):11-16.
25. Bhardwaj S, Dhawale KBJ, Patil M, Divase S. *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*, the nosocomial pathogens with special reference to multi-drug resistance and phenotypic characterization. *Int J Pharma Sci Pract*. 2013;2(1):1-10.
26. Arbabi L, Boustanshenas M, Rahbar M, Owlia P, Adbi M, Koochi SR, et al. Antibiotic susceptibility pattern and virulence genes in *Enterococcus* spp. isolated from clinical samples of Milad hospital of Tehran, Iran. *Arch Clin Infect Dis*. 2016;11(3):e36260.
27. Arias C, Murray B. Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. *Expert Rev Anti-infect Ther* 2015;12(10):1221-36.
28. Hayakawa K, Marchaim D, Palla M, Gudur UM, Pulluru H, Bathina P, et al. Epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*: a case-case-control study. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(1):49-55.