مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های انتروکک جدا شده از فاضلاب شهر تهران

بهاره شقاقی [۱]، معصومه نخست لطفی [۲] ، نیرسادات محمودی [۳] ، محمد رضا پور شفیع [۴*]

۱. کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات باکتریولوژی ، انستیتوپاستور ایران
۲. کارشناس علوم آزمایشگاهی، مرکز تحقیقات باکتریولوژی ، انستیتوپاستور ایران
۳. کارشناس میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات باکتریولوژی ، انستیتوپاستور ایران
۴. Ph.D. میکروبیولوژی، دانشیار مرکز تحقیقات باکتریولوژی ، انستیتوپاستور ایران

* نشانی برای مکاتبه: تهران، خیابان ۱۲ فروردین، انستیتوپاستور ایران، بخش میکروب شناسی، تلفن و نمابر: ۶۶۴۰۵۵۳۵-۰۲۱ pour@pasteur.ac.ir ،
yahoo62@yahoo.com
دریافت مقاله: بهمن هشتاد و پنج پذیرش برای چاپ: اردیبهشت هشتاد و شش

چکیده

سابقه و هدف: *انتروکوک ها دومین عامل ایجاد کننده عفونت های ادراری، سومین عامل باکتریمی و عفونتهای بیمارستانی می باشند. در حال حاضر ونکومایسین یکی از داروهای مؤثر در درمان عفونتهای ناشی از انتروکک ها می باشد. شیوع روزافزون انتروکوکهای مقاوم به ونکومایسین (VRE) در جهان و توانایی این میکروارگانیزم ها در ایجاد عفونتهای خطرناک لزوم مطالعه بیشتر در خصوص این باکتریها را نشان می دهد. با توجه به استفاده از فاضلاب ها برای آبیاری محصولات کشاورزی و نظر به اینکه امروزه انتروکک ها به عنوان مخازنی جهت انتشار ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیکها به حساب می آیند , حضور سویه های مقاوم در فاضلاب می تواند خطری جدی برای بهداشت جامعه باشد. این مطالعه با هدف تعیین مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های انتروکک جدا شده از فاضلاب شهر تهران انجام گرفت.*

روش کار: *چهار مرتبه نمونه گیری از تصفیه خانه اکباتان فاضلاب شهر تهران در فاصله زمانی سال ۱۳۸۴ تا ۱۳۸۵ انجام گرفت. پس از جداسازی انتروکوکها بر روی محیط اختصاصی انتروکوک (ME agar) حاوی ۴ µg/ml آنتی بیوتیک ونکومایسین و با استفاده از تستهای بیوشیمیایی مانند تخمیر قندها , استفاده از آرژنین , رشد در دمای ۴۵ درجه و رشد در نمک ۶/۵ درصد نمونه ها تعیین هویت شدند و سپس تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی به دو روش دیسک دیفیوژن جهت آنتی بیوتیک های (ونکومایسین , آمپی سیلین , کلرامفنیکل , سیپروفلوکساسین , تتراسایکلین , اریترومایسین و جنتامایسین) و MIC جهت آنتی بیوتیک ونکومایسین به روش Micro dilution broth test انجام شد.*

یافته ها: *از ۱۳۱ ایزولهٔ مقاوم به ۴µg/ml ونکومایسین،(۷۵٪) ۹۸ سویه* Enterococcus gallinarum*، (۱۸٪) ۲۴ ایزوله از نوع* E. faecium *و (۷٪) ۹ ایزوله به صورت* E. casseliflavus *شناسایی شدند. در مورد مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در مورد تمام آنتی‌بیوتیک‌ها (بجز کلرامفنیکل) افزایش قابل ملاحظه‌ای درمیزان مقاومت ایزوله‌های جدا شده در سال ۱۳۸۵ نسبت به ایزوله‌های جدا شده در سال ۱۳۸۴ مشاهده شد.*

نتیجه گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که E. faecium و E. gallinarum شایع‌ترین سویه‌های موجود در فاضلاب شهری تهران بودند و E. casseliflavus کمترین شیوع را در میان سویه‌های جدا شده نشان دادند. نتایج مطالعه حاضر افزایش قابل توجهی در میزان مقاومت سویه‌های انتروکک جدا شده در سال ۱۳۸۵ نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف (بجز کلرامفنیکل) در مقایسه با سویه های جدا شده در سال ۱۳۸۴ نشان می‌دهد. همچنین با توجه به نتایج این تحقیق با مشاهدهٔ میزان بالای مقاومت در گونه‌های E. casseliflavus و E. gallinarum می‌توان انتقال پلاسمیدی این ژن‌ها را در شرایط طبیعی پیشنهاد نمود.

واژگان کلیدی: ***مقاومت آنتی‌بیوتیکی، فاضلاب، انتروکوکوس***

مقدمه

استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها با افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی همراه است. آنتی‌بیوتیک‌ها در پزشکی ، دامپزشکی و در پرورش حیوانات به عنوان محرک‌های رشد به کار می‌روند که خود منجر به افزایش بروز مقاومت در بین باکتریها می‌شود. افزایش و گسترش باکتری‌های بیماری زای مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها ، درمان موثر بیماری‌های عفونی را تهدید می کند. فاکتورهای مقاومت اغلب با عناصر ژنتیکی متحرک مانند ترانسپوزون ها یا پلاسمیدهای کونژوگاتیو همراه می‌باشند و بدین وسیله به باکتری‌های دیگر منتقل می‌شوند(۱).

مطالعات متعدد نشان داده است که در طی دهه گذشته عفونتهای بیمارستانی که به وسیله باکتریهای مقاوم ایجاد می‌شوند بسیار رایج شده است و مرگ و میر در این عفونت های بیمارستانی در حال افزایش است که اغلب با مقاومت دارویی همراه می‌باشد(۲). چون کوکسی‌های گرم مثبت معمول ترین عفونتهای اکتسابی در بیمارستانها می‌باشند اخیراً توجه بیشتری را به خود جلب کرده‌اند(۱). آنتی‌بیوتیک‌های گلیکوپپتیدی برای درمان عفونت‌های شدید ناشی از باکتریهای گرم مثبت حائز اهمیت بوده و ونکومایسین و تیکوپلانین مهمترین اعضای خانواده گلیکوپپتیدها از نظر پزشکی هستند(۳). بدلیل فعالیت برجسته این آنتی‌بیوتیک‌ها اغلب این داروها به عنوان آخرین خط درمانی بر ضد باکتری‌های گرم مثبت بیماری‌زا با مقاومت چند دارویی مورد استفاده قرار می‌گرفتند(۴). اما باپیدایش مقاومت به ونکومایسین ، پزشکان در درمان عفونتهای جدی ناشی از باکتریهای گرم مثبت دچار مشکل شده‌اند و این مسئله منجر به مطالعه بیشتر در زمینه فهم اساس مولکولی مقاومت به ونکومایسین شده است. مقاومت نسبت به ونکومایسین در انواع کوکسی‌های گرم مثبت مشاهده شده است(۵).

انتروکوکها باکتری‌های غالب مدفوع انسان هستند و در فاضلابها به فراوانی وجود دارند آنها جزو معمول ترین ارگانیزم هایی هستند که در عفونت‌های بیمارستانی وجود دارند و به وسیله مواد مدفوعی حیوانی و انسانی وارد محیط می شوند و جزء باکتری‌هایی هستند که در محیط دارای فراوانی بالایی هستند. انتروکوک‌ها مقاومت آنتی‌بیوتیکی را به راحتی کسب می‌کنند و قادر به انتقال ژن‌های مقاومت به سایر گونه‌ها می‌باشند(۶). مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های متعدد شامل ونکومایسین در انتروکوک‌ها منجر به پیدایش محدودیتهای درمانی شده است(۷و ۸). این مطالعه با هدف تعیین مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های انتروکک جدا شده از فاضلاب شهر تهران انجام گرفت.

روش کار

۴ مرتبه نمونه‌گیری از تصفیه‌خانهٔ فاضلاب اکباتان شهر تهران در فاصلهٔ زمانی مرداد ماه ۱۳۸۴ تا مرداد ماه ۱۳۸۵ انجام شد. روش تصفیه فاضلاب در این تصفیه‌خانه به صورت لجن فعال بوده و همراه با هوادهی ممتد فاضلاب خام ورودی تصفیه و آب خروجی به نهر فیروزآباد تخلیه می شود. در مجموع ۱۳۱ ایزوله انتروکک از ۳ حوضچه فاضلاب خام ورودی، لجن و آب خروجی جدا سازی شد. در هر مرحله نمونه‌گیری ظرف استریل با ظرفیت ۲۵۰cc فقط یک بار در عمق ۵۰-۷۰ سانتی‌متری از سطح حوضچه فروبرده شد. به این ترتیب نمونه‌ها در ظروف استریل جمع آوری شده در فلاسک یخ به آزمایشگاه مرکز تحقیقات میکروبیولوژی انستیتو پاستور ایران منتقل شدند و در مدت زمان کمتر از ۳ ساعت مورد بررسی‌های اولیه قرار می‌گرفتند(۹و۱۰).

برای آماده سازی نمونه‌ها، نمونه‌های حوضچه خروجی به صورت مستقیم و بدون تهیه رقت با استفاده از فیلترهای غشایی با منافذی به قطر ۰/۴۵ میکرون(ساخت شرکت Millipore Corporation, Bedford, Mass. USA) به روش ذکر شده توسط kuhn و همکاران فیلتر شدند(۱۱). نمونه‌های حوضچه‌های فاضلاب ورودی ولجن پس از تهیه رقت ۱/۱۰ با استفاده از محلول سرم فیزیولوژی (نرمال سالین) استریل فیلتر شدند. پس از فیلتراسیون فیلترها به مدت ۲ ساعت بر روی محیط غنی BHI agar (ساخت شرکت Becton Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)در دمای ۳۷°C انکوبه شده، سپس فیلترها به محیط اختصاصی m Enterococcus agar(محصول شرکت Becton Dickinson and Company) که حاوی ۴ µg/ml از آنتی‌بیوتیک ونکومایسین است، منتقل شده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷°C انکوبه شدند. پس از اتمام ۴۸ ساعت انکوباسیون فیلترها بر روی محیط m Enterococcus agar کلنی‌های صورتی رنگی بر روی فیلتر ظاهر شد. در این هنگام فیلترها به پلیت‌های حاوی محیط bile esculin agar منتقل گردیدند و به مدت ۲ ساعت در دمای ۴۵°C نگهداری شدند(۱۱). پس از اتمام مدت انکوباسیون کلنی‌های سیاه رنگی بر روی فیلتر ظاهر شد، که این کلنی‌های سیاه رنگ جهت خالص‌سازی انتخاب و بر روی پلیت‌های حاوی blood agar کشت داده شدند و برای مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷°C قرار داده شدند.

برای تعیین هویت سویه‌های مختلف انتروکک از تستهای بیوشیمیایی به صورت زیر استفاده شد.

الف- برای شناسایی جنس انتروکک پس از خالص سازی ایزوله‌ها بر روی محیط مغذی آگار خون‌دار تست‌های رشد در محیط حاوی ۶،۵ درصد NaCl، عدم حضور آنزیم کاتالاز، رشد در دمای ۱۰°C و ۴۵°Cو حضور آنزیم PYR (L-pyrolidonyl-B-naphtyl amid) انجام گرفت.

ب- برای تعیین هویت افتراقی گونه‌های مختلف انتروکک از تست‌های بیوشیمیایی مانند تولید اسید از قندهایی مانند، سوربیتول، سوربوز، مانیتول، آرابینوز، لاکتوز و سوکروز، هیدرولیز اسیدآمینهٔ آرژنین در محیط بی‌هوازی، حرکت و تولید پیگمان استفاده شد.

در تمام تست‌ها از سویه‌های استاندارد *E. faecalis* ATCC 29212 و *E. faecium* BM4147, *E. faecalis* ATCC 51299 *E. faecalis* V583 و *E. gallinarum* BM14974 استفاده شده است.

به منظور بررسی حساسیت‌های دارویی در سویه‌های کار شده در این تحقیق، از دو روش Disk diffusion با استفاده از دیسک‌های ساخت شرکت (Becton Dickinson and Company) برای ۹ آنتی‌بیوتیک amikacin(30µg),ampicillin(10µg) chloramphenicol(30µg),ciprofloxacin(5µg), erythromycin(15µg), gentamicin(10µg), streptomycin(10µg), tetracycline(30µg), vancomycin(30µg) انجام گردید. تعیین MIC به روش Micro dilution broth برای آنتی بیوتیک ونکومایسین و آزمون E-test برای آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین و تیکوپلانین که ساخت شرکت Becton, Dickinson and company, sparks, MD USA. بودند، انجام شد. در انجام تمامی این تست‌ها سعی شده است تا استانداردهای

یافته ها

براساس نتایج به دست آمده از آزمون‌های شیمیایی مربوط به تعیین جنس و گونه انتروکوکوس، از چهار نمونه‌گیری مجزا از تصفیه خانهٔ اکباتان شهر تهران، جمعاً ۱۳۱ ایزوله بدست آمد. که از گونه‌های *E. gallinarum*, *E. faecium* و *E. casseliflavus* بودند. از کل ۱۳۱ ایزوله (۷٪)۹ ایزوله از گونه *E. casseliflavus*،(۱۸٪) ۲۴ ایزوله از گونه *E. faecium* و (۷۵٪)۹۸ایزوله از گونه *E. gallinarum* بودند. ۹۵ سویه از ۹۸سویهٔ *E. gallinarum*، تمام ۲۴ سویهٔ *E. faecium* و تمام۹ سویهٔ *E. casseliflavus* سویه‌های بررسی شده به یک یا چند آنتی‌بیوتیک مقاوم شناخته شدند و فقط ۳ سویهٔ *E. gallinarum* به تمام آنتی‌بیوتیک‌ها حساس شناسایی شد. در میان گونه‌های جدا شده *E. casseliflavus* حساس‌ترین گونه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها بود. میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در میان سویه‌های انتروکک بررسی شده در این مطالعه در جدول ۱ آمده است. میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی هر یک از گونه‌های مختلف انتروکوکوس در نمودار۱ آورده شده است. در تمامی گونه‌ها مقاومت به تمام آنتی‌بیوتیک‌ها مشاهده شد. به جز گونه *E. casseliflavus* که مقاومتی به آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل در آن مشاهده نشد. *E. faecium* نیز تنها گونه‌ای بود که به طور ۱۰۰٪ به دو آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین و سیپروفلوکساسین مقاومت نشان داد. در گونهٔ *E. gallinarum* بیشترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین و پس از آن به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین مشاهده شد. در صورتی که در گونه *E. casseliflavus* بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و استرپتومایسین مشاهده شد. در دو گونهٔ *E. casseliflavus* و *E. gallinarum* استرپتومایسین جزء آنتی‌بیوتیک‌های دارای بیشترین مقاومت بود ولی این روند در مورد گونهٔ *E. faecium* کاملاً متفاوت بوده و مقاومت به آنتی‌بیوتیک مذکور در رده چهارم و پس از آنتی بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، سیپروفلوکساسین و ونکومایسین قرار گرفت. به رغم اینکه در گونه‌های جدا شده *E. gallinarum* گونه غالب را تشکیل می‌داد، اما گونهٔ مذکور به هیچ یک از آنتی‌بیوتیک‌های آزمایش شده مقاومت ۱۰۰٪ نشان نداد. جدول ۲ نشان دهندهٔ تفاوت تعداد و درصد مقاومت بین سال‌های ۱۳۸۴ و ۱۳۸۵ می‌باشد. با توجه به جدول می‌توان مشاهده کرد که در سال ۱۳۸۵ با یک تغییر رو به رشد مقاومت مواجه شدیم و مقاومت نسبت به تمام آنتی‌بیوتیک‌ها افزایش نشان می‌دهد.

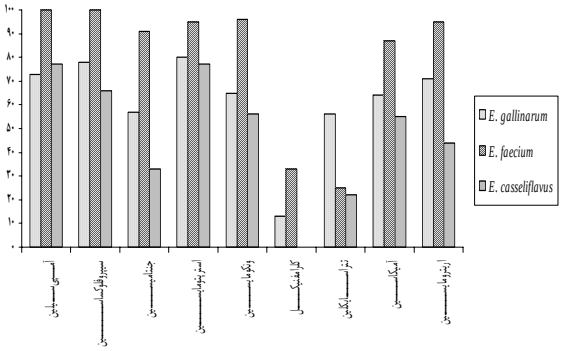
جدول۱: توزیع فراوانی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در میان سویه‌های انتروکک جدا شده از تصفیه‌خانهٔ فاضلاب شهر تهران

	مقاوم		حساس	
آنتی‌بیوتیک	تعداد	درصد	تعداد	درصد
آمپی‌سیلین	۱۰۴	۸۰	۲۷	۲۰
سیپروفلوکساسین	۱۰۸	۸۲	۲۳	۱۸
جنتامیسین	۸۱	۶۲	۵۰	۳۸
استرپتومایسین	۱۰۹	۸۳	۲۲	۱۷
ونکومایسین	۹۲	۷۰	۳۹	۳۰
کلرامفنیکل	۲۱	۱۶	۱۱۰	۸۴
تتراسایکلین	۶۴	۴۹	۶۷	۵۱
آمیکاسین	۱۰۴	۸۰	۲۷	۲۰
اریترومایسین	۹۸	۷۵	۳۳	۲۵

جدول۲: مقایسهٔ تعداد و درصد مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بین سال‌های ۱۳۸۴ و ۱۳۸۵

۱۳۸۵	۱۳۸۴	آنتی‌بیوتیک
تعداد(٪)	تعداد(٪)	
(۹۷)۸۰	(۵۹)۲۹	استرپتومایسین
(۹۱)۷۵	(۴۷)۲۳	اریترومایسین
(۸۷)۷۱	(۳۹)۱۹	آمیکاسین
(۸۲)۶۷	(۵۱)۲۵	ونکومایسین
(۸۷)۷۱	(۷۵)۳۷	سیپروفلوکساسین
(۱۷)۱۴	(۱۴)۷	کلرامفنیکل
(۷۶)۶۲	(۳۹)۱۹	جنتامیسین
(۵۶)۴۶	(۳۷)۱۸	تتراسایکلین
(۹۱)۷۵	(۵۹)۲۹	آمپی‌سیلین

نمودار۱: درصد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در میان گونه‌های مختلف انتروکک جدا شده از تصفیه‌خانهٔ فاضلاب شهر تهران.



بحث

در این بررسی که بر روی انتروکک‌های جدا شده از فاضلاب شهری تهران انجام شده است، با روش جدا سازی در محیط حاوی ۴µg/ml آنتی‌بیوتیک ونکومایسین، تنها ۳ گونهٔ *E. gallinarum*، *E. faecium* و *E. casseliflavus* جداسازی شده‌اند. درمیان این سه گونه *E. gallinarum* بالاترین درصد سویه‌ها را دارد، به طوری که این گونه ۷۵٪ سویه‌های جدا شده در این بررسی را تشکیل می‌دهد. شیوع بالای این گونه در مطالعات دیگر نیز گزارش شده و گزارش جدا سازی *E. gallinarum* از منابع محیطی مانند فاضلاب(۱۲) و خاک و حتی مدفوع احشام(۱۳) انتشار یافته است. هیچ موردی از نمونه‌های بالینی و یا محیطی از *E. gallinarum* مقاوم به ونکومایسین تا کنون در ایران گزارش نشده است. بنابراین این مطالعه اولین نمونه گزارش این سویه در ایران است.

دومین سویهٔ جدا شده *E. faecium* با فراوانی ۱۸٪ از ۱۳۱ سویه جدا شده را تشکیل داده است. *E. faecium* در اکثر مطالعات بالینی و محیطی که در جداسازی سویه‌ها از آنتی‌بیوتیک استفاده نشده است، جزء اولین و شایع‌ترین سویه‌های جدا شده است(۱۴).

از میان سویه‌های پیگمان‌دار تنها سویهٔ *E. casseliflavus*در این مطالعه جدا سازی شد که تنها ۶٪ ایزوله‌ها را تشکیل می داد. در مطالعات دیگر نیز این گونه از شیوع اندکی برخوردار است(۱۵). ظهور و بقای سویه‌های مقاوم به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها عمدتاً ناشی از کاربرد نادرست این دستهٔ دارویی در درمان و پیشگیری از بیماری‌ها است. همچنین استفادهٔ نابجای آنتی‌بیوتیک‌ها در بیماری‌هایی با عامل غیر باکتریایی (به طور مثال ویروسی) و نیز ناقص ماندن دورهٔ درمان آنتی‌بیوتیکی پس از بهبود علائم بیماری و در دسترس بودن بیش از اندازهٔ آنتی‌بیوتیک‌ها و خود درمانی غیر ضروری بیماران با انواع آنتی‌بیوتیک‌ها به گسترش رو به رشد این سویه‌ها کمک می‌کند، و به این ترتیب درمان عفونت‌های حاصله از باکتری‌های مقاوم به دلیل مؤثر واقع نشدن داروهای انتخابی، به معضلی در پزشکی تبدیل شده است. این مسئله زمانی حادتر می‌شود که سویه مزبور مقاومت چندگانه داشته باشد(۱۶).

در مطالعه حاضر در هر سه گونهٔ جدا شده *E. gallinarum* و *E. faecium* سویه‌های مقاوم به ونکومایسین با درصد فراوانی بالا مشاهده شدند، که با توجه به نحوهٔ جدا سازی این سویه‌ها امری بدیهی به نظر می‌رسد. تنها وجود درصد بالایی از سویه‌های VR *E. gallinarum* که تاکنون در ایران گزارش نشده است و در مطالعات دیگر نقاط جهان نیز از شیوع کمتری برخوردار است، لایق توجه به نظر می‌رسد. با توجه به روند انتقال ژن‌های مقاومت به ونکومایسین از انتروکک به سایر باکتری‌های گرم مثبت مانند استافیلوکک‌ها و استرپتوکک‌ها اهمیت این نوع مقاومت مشخص می‌شود. ارتباط ژنتیکی بین مقاومت به ونکومایسین و مقاومت به مقادیر بالای بتالاکتام‌هایی مانند آمپی‌سیلین نیز می‌تواند عامل از اهمیت این نوع مقاومت باشد(۱۷).

ونکومایسین داروی انتخابی عفونت‌های حاصل از سویه‌های چند مقاومتی است، و با توجه به این موضوع که سویه‌های مقاوم به ونکومایسین توانایی کسب این نوع مقاومت‌ها را نیز دارند، با وجود مقاومت به ونکومایسین انتخاب چندانی برای درمان این گونه بیماری‌ها باقی نخواهد ماند. روند بهبودی عفونت حاصل از *E. faecium* مقاوم به ونکومایسین در مقایسه با موارد حساس همین عفونت بسیار طولانی‌تر است(۱۸).

با مقایسهٔ نمونه گیری‌های سال ۱۳۸۴ و ۱۳۸۵ مشخص شد که تمام مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در حال افزایش می‌باشند، که می‌تواند به تولد سویه‌های چند مقاومتی بیانجامد و در این صورت درمان را با مشکلات عدیده‌ای مواجه خواهد کرد(۱۹).

با توجه به میزان بالای شیوع سویه‌های نادر *E. gallinarum* و *E. casseliflavus* با مقاومت‌های سطح بالا به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها در فاضلاب شهری تهران فرضیهٔ انتقال ژن‌های مقاومت در جمعیت انتروکک را قوت می‌بخشد. گزارش موارد آلودگی انسانی به سویه‌های VRE بسیار محدود است، حال آنکه شیوع بالای این گونه باکتری‌ها در فاضلاب شهری می‌تواند به مخزن انتشار این سویه‌ها در اجتماع و حتی محیط‌های بیمارستانی تبدیل شود (۲۰ و ۲۱). حضور انواع مختلف باکتری ها و تماس نزدیک آنها در محیط فاضلاب می‌تواند عاملی برای انتقال ژن‌های مقاومت بین سویه‌های انتروکک و حتی دیگر باکتری‌های گرم مثبت مانند *S. aureus*های مقاوم به متی‌سیلین شده و به فاجعه‌ای در درمان تبدیل شود(۲۲ و ۲۳).

نتیجه گیری

مطالعهٔ حاضر این هشدار را به جامعهٔ پزشکی می‌دهد که پیدایش سویه‌های انتروکک چند مقاومتی یک معضل بهداشتی است. به کارگیری روش‌های کنترل در انتقال افقی انتروکک‌ها در بیمارستان و استفاده صحیح از آنتی‌بیوتیک‌ها و استفاده از روش‌های تشخیص سریع و دقیق انتروککها در آزمایشگاه می‌تواند اثر بسزایی در کاهش این روند رو به رشد مقاومت در انتروکک‌ها داشته باشد.

REFERENCES

1. Ohlesen K, Ternes T, Werner G. "Impact of antibiotics on conjugational resistance gene transfer in Staphylococcus aureus in sewage." Environment. Microbiol. 2003; 5:711-716

2. Pootoolal J, Neu J, Wright G. "Glycopeptide antibiotic resistance." Annul Rev. Pharmacol. Toxicol. 2002; 42:381-408

3. Berger-Bachi B. "Resistance mechanisms of gram positive bacteria."International J. Med. Microbiol. 2002; 292: 27-35

4. Dutka-Malen S, Leclercq R, Coutant V. "Phenotypic and genotypic heterogeneity of glycopeptide resistance determinants in gram positive bacteria." Antimicrob. Agents Chemother. 1990 Oct;1875-1879.

5. Luh K, Hsueh L, Pan H J. "Quinupristin-dalfopristin resistance among gram positive bacteria in Taiwan. "Antimicrob. Agents. Chemother. 2000; 44:3374-3380

6. Kuhn I, Iversen A, Burman L G."Epidemiology and ecology of Enterococci with special reference to antibiotic resistant strains in animals humans and environment." International J of Antimicrobiol Agents 2000; 14: 337-342.

7. Iversen A, Kühn I, Franklin A. "High prevalence of vancomycin resistant Enterococci in Swedish sewage." Appl. Environ. Microbiol. 2002; 68: 2838-2842

8. Lorenzo-Diaz F, Delgado T, Reyes-Darias J A. "Characterization of the first *vanB* vancomycin resistant Enterococcus faecium isolated in a Spanish hospital." Current Microbiol. 2004; 48:199-203.

9. Sieradzki K, Roberts R, Serur D. "Heterogeneously vancomycin resistant Staphylococcus epidermidis strain causing recurrent peritonitis in a dialysis patient during vancomycin therapy." J. of Clin. Microbiol. 1999; 39-44

10. Blanch A R, Caplin, J L, Iversen A, Kuhn I, Manero A, Taylor H D, and Vilanova X. Comparison of enterococcal populations related to urban and hospital wastewater in various climatic and geographic European regions. J. Appl. Microbiol. 2003; 94(6):994-1002

11. Kuhn I, Iversen I, Finn M, Greko C, Burman LG, Blanch AR, *et al.* Occurrence and relatedness of vancomycin-Resistant Enterocicci in Animals, Humans, and the Environment in Different European regions. Appl. Environ. Microbiol. 2005; 7:5383-5390

12. Guardabassi, L., Dalsgaard, A. "Occurrence structure and mobility of *Tn1546* like elements in environmental isolates of vancomycin resistant Enterococci." Appli. Environ. Microbiol. 2004 Feb; 984-990.

13. Harwood VJ, Brownell M, Perusek W and Whitlock JE. Vancomycin-Resistant *Enterococcus* spp. Isolated from Wastewater and Chicken Feces in the United States. Appl. Enviro. Microb. 2001; 43: 4930–4933.

14. Novais C, Coque TM, Ferreira H, Carlos Sousa J and Peixe L. Environmental Contamination with Vancomycin-Resistant Enterococci from Hospital Sewage in Portugal. Appl. Enviro. Microb. 2005; 71: 364-368

15. Gambarotto K, Ploy MC, Turlure P, Grelaud C, Martin C, Bordessoule D, and Denis F. Prevalence of vancomycin-resistant enterococci in fecal samples from hospitalized patients and nonhospitalized controls in a cattle-rearing area of France. J. Clin. Microbiol. 2000; 38: 620-624

16. Lefort A, Arthur M, Garry L, Carbon C, Courvalin P, and Fantin B. Bactericidal activity of gentamicin against *Enterococcus faecalis* in vitro and in vivo. Antimicrob. Agents. Chemother. 2000; 44:2077-2080

17. Cerdenando E, Elipoulos GM, Wenneresten CB and Moellering RC. Abcence of synergistic activity between ampicillin and vancomycin against highly vancomycin-resistant Enterococci. Antimicrob. Agents. Chemother. 1992; 36: 2201-2203

18. Arthur M, Molinast C, Depadieu F and Courvalin P. Characterization of Tn1546, a Tn3-Related Transposon Conferring Glycopeptide Resistance by Synthesis of Depsipeptide Peptidoglycan Precursors in Enterococcus faecium BM4147. J. Bacteriol. 1993; 175:117-127

19. Depardieu F, Perdichon B, and Courvalin P. Detection of the *van* alphabet and identification of Enterococci and Staphylococci at the species level by multiplex PCR. J. Clin. Microbiol. 2004; 42:5857-60.

20. Farrell DJ, Morrissey I, Rubeis D, Robbins M, Felmingham D. A UK multicenter study of the antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens causing urinary tract infection. J. infect. Dis. 2003

21. Liassine N, Frei R, Jan I and Auckenthaler R. Characterization of glycopeptide-resistant enterococci from a Swiss hospital. J. Clin. Microbiol. 1998; 36: 1853–18581.

22. Dutka-Malen S, Blaimont B, Wauters G, and Courvalin P. (). Emergence of high-level resistance to glycopeptides in *Enterococcus gallinarum* and *enterococcus casseliflavus*. Antimicrob. Agents. Chemother. 1994; 38:1675-1677

23. Kariyama R, Mitsuhata R, Chow JW, Clewell D, and Kumon H. Simple and Reliable Multiplex PCR Assay for Surveillance Isolates of Vancomycin-Resistant Enterococci. J. Clin. Microbiol. 2000; 43: 3092–3095.