سویه های انتروکوکوس مقاوم به ونکومایسین در مرغ داری های تهران

لیلا اربابی[۱]، مجید بوذری[۲]، جلیل وندیوسفی[۳]، فرمیسک رحیمی[۴]، فاتح رحیمی[۵*]

۱.دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
۲.استادیار ویروس شناسی گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان
۳.استاد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
۴.دانشجوی مهندسی کامپیوتر دانشگاه آزاد اسلامی
۵.دانشجوی دکتری تخصصی میکروبیولوژی گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان

* **نشانی برای مکاتبه:** اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم ۲، گروه زیست شناسی، Fateh_rahimi@sci.ui.ac.ir
دریافت مقاله: بهمن هشتاد و هشت پذیرش برای چاپ: فروردین هشتاد نه

چکیده

سابقه و هدف: *انتروکوک ها فلور نرمال دستگاه گوارش انسان، پرندگان و سایر حیوانات هستند که از مهم ترین عوامل رایج ادر یجاد عفونت های بیمارستانی محسوب می شوند. با توجه به انتقال ژنهای مقاومت بین باکتری ها و انسان، مخازن طبیعی میتوانند در انتشار سویه های مقاوم دخالت داشته باشند. این مطالعه با هدف شناسایی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در میان ایزوله های انتروکوکوس جداسازی شده از مرغداری های تهران به انجام رسیده است.*

روش کار: *۱۲۲ ایزوله انتروکوکوس بر روی محیط Membrane Filter Enterococcus Selective Agar واجد ونکومایسین جداسازی و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تا حد گونه شناسایی گردیدند. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی این سویه ها نسبت به ۶ آنتی بیوتیک به روش دیسک دیفیوژن و همچنین MIC سویه های مقاوم به ونکومایسین به روش micro-dilution با استفاده از توصیه های CLSI انجام گردید.*

یافته ها: *۲۶، ۴۵ و ۵۱ سویه بترتیب E. faecalis، E. faecium و E. gallinarum بودند. ۳۹ سویه نیز مقاوم به ونکومایسین بود. مقاومت به آنتی بیوتیک های ونکومایسین، تتراسایکلین، جنتامایسین، کلرامفنیکل، سیپروفلوکساسین و اریترومایسین بترتیب ۳۹، ۲۳، ۱۹، ۸، ۱۹ و ۲۰٪ بود. MIC ۷۰٪ از سویه ها نیز برابر یا بیش از ۲۵۶ میکروگرم بر میلی لیتر بود.*

نتیجه گیری: *به رغم شیوع سویه های VRE متعلق به ۳ گونه بود اما E. faecium بالاترین میزان مقاومت را داشت و مقاومت بالایی به طیف وسیعی از آنتی بیوتیک ها را نشان داد. نتایج این مطالعه نشان دهنده نقش بسیار مهم نمونه های ماکیان بعنوان مخازن شاخص های مقاومت است، بنابراین باید نسبت به نظارت دقیق بر سیستم بهداشتی و غذایی توجه شایانی مبذول داشت.*

واژگان کلیدی: ***انتروکک ، ماکیان ، تهران***

مقدمه

حضور دائمی انتروکوک ها در دستگاه گوارش انسان و حیوانات به عنوان فلور نرمال، اهمیت بالینی آنها در ایجاد عفونت، توانایی ایجاد مقاومت به چند آنتی بیوتیک و ظرفیت بالای آنها برای انتقال افقی ژنها؛ این گروه از باکتری ها را به یک گروه مناسب و ایده آل برای تحقیقات اکولوژیک جهت ژن های مقاومت به آنتی بیوتیک تبدیل نموده است (۴-۱). حداقل ۱۲ گونه از انتروکوکها وجود دارند، E. faecalis شایعترین آنها بوده و حدود ۸۵ تا ۹۰ درصد از عفونتهای انتروکوکی را ایجاد می نماید (۴-۱). در حالیکه E. faecium حدود ۱۰-۵٪ از عفونتها را بوجود می آورد و ۲-۱٪ از عفونتها توسط E. gallinarum و E. casseliflavus بوجود می آید (۵و۶). انتروکوک ها، عوامل مکرر در ایجاد عفونت های بیمارستانی در بخشهای مراقبت ویژه می باشند که در این بخش ها به علت مصرف بی رویه سفالوسپورین ها و سایر آنتی بیوتیک هایی که انتروکوک ها به آنها مقاوم هستند، ظاهر می شوند. از سال ۱۹۷۰ تا کنون انتروکوک ها به عنوان یکی از عوامل ایجاد کننده عفونت های بیمارستانی مطرح شده اند. به دلیل وجود مقاومت ذاتی و همچنین مقاومت اکتسابی ناشی از موتاسیون و یا دریافت اجزا ژنتیکی از طریق انتقال پلاسمید ها یا ترانسپوزون ا، این باکتری قادر به بقا در محیط بیمارستان است (۷و۸).

آنتی بیوتیک های استفاده شده در غذای دام و طیور (مانند آووپارسین، باسیتراسین، اسپیرامایسین، تیلوسین، ویرجینیامایسین، تتراسیکلین و آمپی سیلین) به عنوان فاکتور افزاینده رشد، می تواند یکی از عوامل ظهور VRE در حیوانات اهلی باشند، زیرا سویه های VRE توانایی انتقال از راه مواد غذایی تهیه شده آلوده را به انسان دارد. به همین دلیل از سال ۱۹۹۷ مصرف افزاینده های آنتی بیوتیکی بخصوص آووپارسین در اروپا ممنوع شد؛ در نتیجه این ممنوعیت مشخص گردید که VRE در نمونه های مدفوعی از دام ها و همچنین تولیدات دامی کاهش یافته است (۹). به عنوان مثال یک تحقیق جامع در دانمارک مشخص نمود که شیوع E. faecium مقاوم به آنتی بیوتیک های گلیکوپپتیدی از نمونه های مدفوعی ماکیان از ۷۲/۷٪در سال ۱۹۹۵ به ۵/۸٪ در سال ۲۰۰۰ رسیده است. حتی در مورد نقش حشرات به عنوان ناقلین پاتوژن های انسان و حیوانات نیز تحقیقاتی صورت گرفته است زیرا رشد در مواد در حال فساد و تماس با باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک موجود در کود حیوانات و یا سایر مواد ارگانیک در حال فساد، آنها را تبدیل به کاندیدای مناسبی جهت انتشار باکتری های مدفوعی انسان و حیوانات و در نتیجه انتشار عوامل مقاومت به آنتی بیوتیک نموده است (۱۰).

تاکنون ونکومایسین تقریبا تنها داروئی بود که می توانست به طور دائم جهت درمان عفونت های ناشی از انتروکوک ها ی مقاوم به چند دارو به کار برده شود (۱۱و۱۲). ونکومایسین یک آنتی بیوتیک گلیکوپپتیدی است که به جای پنی سیلین همراه با آمینو گلیکوزید در درمان عفونت های انتروکوکی تجویز می شود. تیکوپلانین، داروی گلیکو پپتیدی دیگری است که از نظر ساختمانی شبیه ونکومایسین است. به دلیل فعالیت این آنتی بیوتیک ها در برابر استافیلوکک های مقاوم به متی سیلین و سایر باکتری های گرم مثبت، این داروها به طور گسترده ای جهت درمان و پیشگیری بر علیه عفونت های ناشی از این ارگانیسم ها به کار برده می شوند (۱۱و۱۲).

در بسیاری از مطالعات از انتروکوک ها به عنوان یکی از منابع مهم ژنهای مقاومت به آنتی بیوتیک نام برده شده است ولی در مورد نقش آنها در آلودگی فرآورده های غذایی اطلاعات کمی گردآوری شده است. قابل ذکر است که تا کنون توانسته اند که این باکتری را در شیر، پنیر، گوشت ماکیان، غذاهای آماده به طبخ و همچنین غذاهایی که به درستی پخته نشده اند بیابند (۱۰). همچنین طی تحقیقات متعدد انجام شده در اروپا و آمریکای جنوبی، سویه های VRE را در نمونه های خوک، اسب های پرورشی، گاو وگوسفند، مرغ و جوجه مرغ و بوقلمون شناسایی کرده اند (۱۰).کاملا واضح است که استفاده بی رویه و بدون نظارت آنتی بیوتیک ها جهت درمان و یا کنترل عفونت در انسان و یا به عنوان فاکتورهای رشد در غذای حیوانات یکی از دلایل شیوع باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک است (۹). همچنین حیواناتی که در صنایع غذایی مطرح هستند به عنوان مخازن طبیعی این گونه مقاومت ها درخور توجه هستند.

این مطالعه با هدف شناسایی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در میان ایزوله های انتروکوکوس جداسازی شده از مرغداری های تهران به انجام رسیده است.

روش کار

در این مطالعه در مجموع ۱۲۲ ایزوله مختلف انتروکوکوس در فصل های بهار، تابستان و پاییز و در طی ۴ مرتبه نمونه گیری در سال ۱۳۸۸ از ۲ مرغداری موجود در حومه شهر تهران بدست آمدند. تمامی این نمونه ها از ۳ منبع مختلف شامل گوشت، مدفوع و سواب رکتال با استفاده از شیشه های درب دار استریل و همچنین محیط ترانسپورت جمع آوری شده و سپس در مجاورت یخ به آزمایشگاه نگین منتقل شدند. در آزمایشگاه نیز تا زمان شروع آزمایشات که کمتر از ۳ ساعت بود در یخچال نگهداری شدند. جهت انجام این مطالعه از محیط اختصاصی انتروکوکوس Membrane Filter Enterococcus Selective Agar (Merck, Germany) حاوی 2, 4, 8 µg/ml آنتی بیوتیک ونکومایسین (St. Louis, MO) و محیط فاقد آنتی بیوتیک و همچنین سیستم فیلتراسیون (Millipore Corporation, Bedford, MA, USA) در مورد نمونه های گوشت و مدفوع استفاده شد (۴-۱و ۱۵-۱۳).

محیط اختصاصی واجد فیلتر و همچنین محیط های واجد نمونه های سواب رکتال بمدت ۴۸-۳۶ ساعت در ۴۴°C قرار گرفتند. پس از این مدت، کلنی های قرمز رنگ بر روی محیط پدیدار شدند. فیلترها به پلیت های حاوی محیط bile esculin agar (Merck, Germany) منتقل شده و بمدت ۲ ساعت دردمای ۴۵°C قرار گرفتند (۴-۱و ۱۵-۱۳). پس از این مرحله، کلنی های سیاه رنگی مشخص گردیدند که جهت انجام آزمون های کاتالاز، Pyrrolidonyl aminopeptidase (PYR)، رشد در محیط NaCl ۶/۵٪ مورد بررسی قرار گرفتند. بنابراین سویه های کاتالاز منفی، بایل اسکولین و PYR مثبت که قابلیت رشد درمحیط NaCl ۶/۵٪ و دمای ۴۵°C را داشتند؛ بعنوان جنس انتروکوکوس انتخاب و با استفاده از آزمون های بیوشیمیایی، حرکت، تخمیر قندهای ال-آرابینوز، لاکتوز، متیل آلفا-دی گلوکوپیرانوزید، مانیتول و ال-سوربوز و همچنین آزمون بررسی وجود یا عدم وجود پیگمان، تا حد گونه شناسایی شدند (۴-۱و ۱۵-۱۳). پس از شناسایی اولیه گونه های مختلف، جهت تأیید این گونه ها از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و برنامه حرارتی، {95°C (30 s), 52°C (1 min), 72°C (1 min)}, 72°C for 7 min 95°C (4 min), 30 cycles استفاده شد (۱۳). برای استخراج DNA از روش boiling استفاده شد (۱۳).الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های مختلف نسبت به ۶ آنتی بیوتیک ونکومایسین (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم) و کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم) به روش دیسک دیفیوژن با استفاده از استانداردهای Clinical Laboratory and Standard Institute (CLSI) تعیین گردید (۱۶). سپس سویه های مقاوم نسبت به آنتی بیوتیک ونکومایسین جهت انجام آزمون MIC به روش Micro-dilution بر اساس استانداردهای CLSI انتخاب شدند و MIC آنها تعیین گردید (۱۷).

یافته ها

بر اساس نتایج آزمون های بیوشیمیایی و ژنتیکی مختلف جهت تعیین جنس و گونه ایزوله های مختلف انتروکوکوس، در مجموع از ۱۲۲ ایزوله جداسازی شده ۳ گونه مختلف شناسایی شد. بدین ترتیب که ۵۱ ایزوله بعنوان E. gallinarum، ۲۷ ایزوله بعنوان E. faecalis و ۴۵ ایزوله بعنوان E. faecium شناسایی شدند. نتایج این مطالعه نشان داد که این ۳ گونه از هر دو مرغداری جداسازی شدند و در هر دو مرغداری نیز گونه E. gallinarum گونه غالب بود و پس از آن گونه های E. faecium و E. faecalis در مراتب بعدی قرار داشتند.

تمامی۱۲۲سویه انتروکوکوس جدا شده به روش دیسک دیفیوژن و جهت بررسی حساسیت آنتی بیوتیکی این سویه ها نسبت به آنتی بیوتیکهای نام برده مورد بررسی قرار گرفتند. بالاترین مقاومت نسبت به ونکومایسین (۳۲٪) بوده و پس از آن تتراسایکلین (۲۳٪) و اریترومایسین (۲۰٪) در مراتب بعدی قرار داشتند. همچنین میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین و جنتامایسین (هرکدام ۱۹٪) نیز برابر بود و کمترین مقاومت نیز نسبت به کلرامفنیکل (۱۵٪) مشاهده گردید.

در جدول ۱ الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های مقاوم به ونکومایسین بر اساس نوع گونه نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می کنید از ۳۹ سویه VRE، E. faecium تقریبا نیمی از سویه های مقاوم را به خود اختصاص داده است و پس از آن E. faecalis و E. gallinarum در مراتب بعدی قرار داشتند. همچنین می توان مشاهده نمود که گونه E. faecium بالاترین تعداد سویه های مقاوم را نسبت به بیشتر آنتی بیوتیکها در اختیار دارد اما گونه E. faecalis بالاترین مقاومت را نسبت به آنتی بیوتیک کلرامفنیکل نشان می دهد و هیچکدام از سویه های E. gallinarum به این آنتی بیوتیک مقاوم نبودند.

در جدول ۲ سویه های مختلف VRE از نظر مقاومت های چندگانه طبقه بندی شده اند. بر این اساس نشان داده شد که هیچکدام از سویه ها نسبت به تمامی ۶ آنتی بیوتیک مقاوم نبودند. اما ۲ سویه نسبت به ۵ آنتی بیوتیک ونکومایسین، تتراسایکلین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین و اریترومایسین مقاوم بودند. همچنین ۹ سویه نیز نسبت به ۴ دسته آنتی بیوتیک مختلف مقاوم بودند. ۱۰ سویه نسبت به ۲ آنتی بیوتیک، ۱۱ سویه نسبت به ۳ آنتی بیوتیک و ۷ سویه نیز تنها نسبت به آنتی بیوتیک ونکومایسین مقاوم بودند و نسبت به سایر آنتی بیوتیکها حساسیت نشان دادند.

پس از انجام آزمون MIC نسبت به آنتی بیوتیک ونکومایسین بر روی ۳۹ سویه VRE مشخص گردید که ۷۰٪ سویه ها امقاومت بالایی (MIC≥256 µg/ml) به ونکومایسین دارند. همچنین در ۲۲٪ از سویه ها MIC≥64 µg/ml و در ۸٪ از سویه های VRE نیز MIC≥32 µg/ml بود.

جدول ۱. مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های VRE بر اساس نوع گونه

آنتی بیوتیک / گونه	ونکومایسین	تتراسایکلین	جنتامایسین	سیپروفلوکساسین	اریترومایسین	کلرامفنیکل	تعداد
E. gallinarum	۸	۲	۲	۳	۳	۰	۸
E. faecalis	۱۲	۲	۴	۵	۳	۶	۱۲
E. faecium	۱۹	۱۱	۱۱	۵	۹	۲	۱۹

جدول ۲. مقاومتهای چند دارویی در میان سویه های VRE

آنتی بیوتیک	تعداد	درصد
V,T,G,Cip,E,C	۰	۰
V,T,G,Cip,E	۲	۵/۱
V,T,G,E	۷	۱۸
V,T,Cip,C	۱	۲/۶
V,TG,Cip	۱	۲/۶
V,T,Cip	۱	۲/۶
V,T,E	۲	۵/۱
V,G,E	۲	۵/۱
V,Cip,E	۱	۲/۶
V,Cip,C	۴	۱۰/۲
V,G,C	۱	۲/۶
V,Cip	۲	۵/۱
V,E	۲	۵/۱
V,C	۲	۵/۱
V,G	۳	۷/۶
V,T	۱	۲/۶
V	۷	۱۸

بحث

در این مطالعه مشخص شد که در ایران شیوع گونه های VRE در میان ماکیان متنوع تر از نمونه های بیمارستانی و فاضلابی است و شامل ۳ گونه E. gallinarum و E. faecalis و E. faecium می باشد. اما بطور کلی و بدون در نظر گرفتن مقاومت نسبت به ونکومایسین نیز شیوع گونه های مختلف انتروکوکی محدود به سه گونه گالیناروم، فکالیس و فسیوم بود که از این نظر تنوع پایین تری را نسبت به نمونه های فاضلابی نشان داد (۴-۱و ۱۵-۱۳). همانگونه که انتظار می رفت در این مطالعه سویه E. gallinarum گونه غالب بود و بالاترین شیوع را داشت و پس از آن E. faecium در مرتبه دوم قرار داشت. اما در مورد سویه های VRE به رغم استفاده از محیط های واجد غلظت های مختلف آنتی بیوتیک ونکومایسین اما گونه E. faecium بالاترین شیوع را داشت و از بالاترین مقاومت نسبت به ونکومایسین برخوردار بود،که این نتایج منطبق بر سایر مطالعاتی است که در ایران و در مورد نمونه های محیطی انجام گرفته است (۴-۱و ۱۵-۱۳)؛ که این امر می تواند ناشی از قابلیت و توانایی بالای گونه فسیوم در کسب مقاومت نسبت به عوامل ضدمیکروبی و همچنین شرایط نامساعد باشد که بواسطه این عوامل این سویه را تبدیل به یکی از قوی ترین پاتوژن های فرصت طلب نموده است (۴-۱).

در مقایسه با سایر مطالعاتی که در ایران بر روی نمونه های محیطی و بالینی انجام گرفته است، میزان مقاومت به ونکومایسین بسیار بالاتر است. شاید دلیل این امر استفاده از محیط هایی واجد غلظت های متفاوتی از ونکومایسین جهت غربالگری سویه ها بوده است. اما در هر صورت مقاومت به ونکومایسین ۳۲٪ بود که در مقایسه با سایر مطالعاتی که در سراسر دنیا انجام گرفته است این میزان متفاوت و متغیر است. در طی یک تحقیق برروی دام و طیور در سال ۲۰۰۵ در اتریش، سویه های VRE مشاهده شده در نمونه های احشام ۲۱/۶٪، نمونه خوک ۲۳/۳٪ و نمونه مربوط به جوجه ۷۷/۱٪ است (۹). همچنین Kuhn در مطالعه خود درسال ۲۰۰۵ بر روی نمونه های بالینی، دامی و محیطی در اروپا میزان مقاومت به ونکومایسین را ۱۱-۸٪ گزارش نموده است (۱۸).

علت انتشار سویه های مقاوم به ونکومایسین در اروپا و امریکا مربوط به استفاده بی رویه گلیکوپپتیدها در مراکز درمانی و به دنبال آن انتخاب این سویه ها در دستگاه گوارش انسان و کلونیزه کردن دستگاه گوارش افرادو یا فقط انتقال ژن های مقاومت به باکتری های ساکن دستگاه گوارش، در حین عبور و نیز مصرف ترکیباتی مثل آووپارسین به عنوان مکمل غذای دام و محرک رشد ماکیان می باشد (۴-۱ و ۱۸).

مقاومت نسبت به اریترومایسین در این تحقیق ۲۰٪ بود که این میزان در سویه های VRE به ۳۸٪ گزارش گردید که به دلیل مصرف بی رویه این آنتی بیوتیک در ایران است. اریترومایسین یکی از آنتی بیوتیک های مصرفی در دام و طیور نیز هست که در ایجاد مقاومت در انتروکوکوس موثر است (۲۱-۱۹).

مقاومت به سیپروفلوکساسین ۱۹٪ و در سویه های VRE ۳۳٪ است. به واسطه موفقیت در درمان عفونت های دستگاه ادراری، این آنتی بیوتیک بسیار مورد استفاده قرار می گیرد و همانند سایر آنتی بیوتیک ها مقاومت در E. faecium رایج تر از E. faecalis و گونه های دیگر است. در گزارشی از یونان در سال ۲۰۰۰ این مقاومت در E. faecium ۳ برابر E. faecalis بوده است. Stobberingh نیز میزان مقاومت را در تمامی سویه ها و همچنین سویه های مقاوم به ونکومایسین بدست آمده از نمونه های بوقلمون را به ترتیب ۱۲٪ و ۱۲٪ گزارش نموده است (۲۲).

به طور کلی میزان مقاومت به جنتامایسین ۲۲٪ و در سویه های VRE حدود ۴۶٪ است.سویه غالب مقاوم به جنتامایسین همانطور که پیش بینی میشد فسیوم است. Liassine و همکاران در سال ۱۹۹۸در سویه های یافت شده در فاضلاب بیمارستانی در سوییس، میزان مقاومت را در حدود ۴٪ گزارش می دهند (۲۳). از طرفی Khan و همکاران در سال ۲۰۰۴ در آمریکا میزان مقاومت به جنتامایسین را حدود ۹۶٪ گزارش نموده اند (۲۴).

میزان مقاومت به تتراسیکلین در این تحقیق ۲۳٪و در سویه های مقاوم به ونکومایسین ۳۸٪ مشاهده شد که در کل میزان مقاومت به تتراسیکلین در کل دنیا بسیار متغیر است. در سوییس و امریکا بسیار بالاست و در پرتغال و فرانسه این میزان کمتر است (۲۱و۲۴).

در این مطالعه پایین ترین مقاومت نسبت به کلرامفنیکل مشاهده شد که در حدود ۱۵٪ بود. این میزان هرچند که بالاتر از مقاومت سویه های جدا شده از نمونه های محیطی و بالینی است اما در مجموع بطور کلی مقاومت به این آنتی بیوتیک پایین است، که این امر شاید بدلیل استفاده پایین از این آنتی بیوتیک بواسطه اثرات سوء آن در شرایط in vivo باشد.

بر طبق شواهد موجود از یک طرف اعتقاد بر انتقال افقی VRE از حیوان به انسان وجود دارد (۴-۱)؛ و از طرفی دیگر انواع گونه های انتروکوکی توانایی تکثیر و بقاء در خاک و آب را دارند و این مقاومت در محیط برای مبارزه با آنها بسیار مشکل ساز است؛ بنابراین بایستی که توجه زیادی را به جلوگیری از انتقال و پخش میکروارگانیسم ها در طبیعت معطوف داشت. سلامت عمومی جامعه ممکن است با انتقال VRE بویژه اگر میکروارگانیسم از طریق مدفوعی به آبهای سطحی انتقال یابد، در معرض تهدید قرار گیرد. زیرا این آبها ممکن است بدون هیچگونه توجهی مورد مصرف قرار گیرند (۴-۱و ۱۵-۱۳).

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان دهنده نقش بسیار مهم نمونه های ماکیان بعنوان مخازن شاخص های مقاومت است؛ که با توجه به انتقال شاخص های مقاومت به ونکومایسین در میان حیوان، انسان و محیط؛ بنابراین باید نسبت به نظارت دقیق بر سیستم بهداشتی و غذایی توجه شایانی مبذول داشت.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می دانند که مراتب قدردانی و سپاسگزاری خود را از استاد ارجمند جناب آقای دکتر محمد رضا پورشفیع بواسطه جامعترین و کاملترین تحقیقاتی که در زمینه انتروکوک در ایران انجام داده اند و نتایج ایشان گره گشای بسیاری از مشکلات این تحقیق بوده است را اعلام نمایند.

REFERENCES

۱. رحیمی فاتح، طالبی ملیحه، سیفی مهناز و پورشفیع محمد رضا. بررسی بیوشیمیایی و ژنتیکی انتروککهای جداشده از فاضلاب شهری تهران با تأکید بر سویه های دارای ژن *vanA* و *vanB*. فصلنامه بیماریهای عفونی و گرمسیری ایران. شماره ۴۲، پاییز ۱۳۸۷، صفحات ۳۷-۳۱.

۲.رحیمی فاتح، بوذری مجید، اربابی لیلی، رحیمی فرمیسک، ملکی زهره و وندیوسفی جلیل. بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و تعیین ژنهای مقاومت *vanA* و *vanB* در میان سویه های انتروککی جدا شده از مراکز درمانی و آزمایشگاه های شهر تهران. فصلنامه بیماریهای عفونی و گرمسیری ایران. شماره ۴۳، زمستان ۱۳۸۷، صفحات ۸۴-۷۹.

۳. رحیمی فاتح، سیفی مهناز، پورشفیع محمد رضا، سلطان دلال محمد مهدی، اشراقیان محمد رضا و پورمند محمد رضا. بررسی کلونالیتی سویه های انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فسیوم مقاوم به مقادیر بالای جنتامایسین جدا شده از فاضلابهای شهر تهران. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان. دوره ۱۳، پاییز ۱۳۸۷، صفحات ۸۲-۷۰.

۴. سیفی مهناز، رحیمی فاتح، نخست لطفی معصومه، پورشفیع محمد رضا، سلطان دلال محمد مهدی. بررسی تنوع گونه ها و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی انتروکوکهای جدا شده از دو تصفیه خانه فاضلاب شهر تهران. مجله زیست شناسی ایران. جلد ۲۱، بهار ۱۳۸۷، شماره ۲، صفحات ۲۶۰-۲۵۰.

5. Pootoola J, Neu J, and Wright GD. Glycopeptide Antibiotic Resisrance. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2002; 42:381-408.

6. Magi G, Capretti R, Paolletti C, Pietrella M, and ferrante L. Presence of *vanA*-carrying pheromone response plasmid (PBRGI) in a clinical isolate of *Enterococcus faecium*. Antimicrob Agents Chemother. 2003; 47:1571-1576.

7. Flores RM, Haley JA, Roos TW. Vancomycin-resistant enterococci: aproach to treatment and control. Cancer Cont J. 2000:3:N:1.

8. Murray BE. Diversity among Multidrug-Resistanr enterococci. Emerg Infect Dis. 1998; 4:37-47.

9. Eisner A, Feierl G, Gorkiewicz G, Dieber F, Kessler H, Marth E, and Kofer J. High Prevalence of *vanA*–Type Vancomycin–Resistant Enterococci in Austria Poultry. Appl Environ Microbiol. 2005; 72:6407-6409.

10. Macove L, and Zurek L. Ecology of Antibiotic Resistance Genes: Characterization of Enterococci from Houseflies Collected in food Setting. Appl Environ Microbiol. 2006; 71:4028-4035.

11. Harwood JV, Brownell M, Perusek W, Whitlock EJ. Vancomycin-Resistant Enterococcus spp. Isolated from Wastewater and Chicken Feces in United States. Appl Environ Microbiol 2001; 67:4930-4933.

12. Iversen A, Kuhn I, Franklin A, Mollby R. High Prevalence of Vancomycin-Resistant Enterococci in Swedish Sewage. Appl Environ Microbiol . 2002; 68:2838-2842.

13. Rahimi F, Talebi M, Saifi M, Pourshafie MR. Distribution of Enterococcal Species and Detection of Vancomycin Resistance Genes by Multiplex PCR in Tehran Sewage. Iran Biomed J. 2007; 11:161:167.

14. Talebi M, Rahimi F, Katouli M, Kuhn I, Mollby I, Eshraghi S, Pourshafie MR. Prevalence and Antimicrobial Resistabce of Enterococcal Species in Sewage Treatment Plants in Iran. Water Air Soil Pollut. 2007; 185:111-119.

15. Talebi M. Rahimi F, Katouli M, Mollby R. Pourshafie MR. Epidemiological Link Between Wastewater and Human Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* Isolated. Cur Microbiol. 2008; 56:468-4730.

16. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 11th informational supplement . NCCLS. Wayne, Pa. 2001.

17. National committee for clinical Laboratory standard. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard. M7-A5. MIC testing. NCCLS. Villanova, Pa.2000.

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

19. Wood JJA. Vancomycin Resistant Enterococci. N Eng J Med. 2000; 342:710-721.

20. Hayes JR, McIntosh AC, Qaiyami S, Jhonson JA, English LL, Carr LE, et al. High-frequency of quinupristin-dalfopristin-resistant *Enterococcus faecium* isolates from poultry production environment. J Clin Microbiol. 2001; 39: 2298-2299

21. Novais C, Couque TM, Ferreira H, Sousa JC, Peixe L. Environmental contamination with vancomycin-resistant enterococci from hospital sewage in Portugal. Appl Environ Microbiol. 2005; 71:3364-3368.

22. Stobringh E, Bogaard A, London N, Driessen C, Top J, Willems R. Enterococci with glycopeptides resistance in turkeys, turkey farmers, turkey slaughters and urban residents in the south of the Netherlands, evidence for transmission of vancomycin from animals to humans Antimicrob Agents Chemother. 1999; 43:2215-2221.

23. Liassine N, Frei R, Jan I, Auckenthaler R. Characterization of glycopeotide-resistant enterococci from Swiss hospital. J Clin Microbiol. 1998; 36:1853-1858.

24. Khan Sa, Nawaz Ms, Khan AA, Hopper SL, Jones RA, Cerniglia CE. Molecular characterization of multi drug-resistant Enterococcus spp. from poultry and dairy farms: detection of virulence and vancomycin resistance gene markers by PCR. Cell Probes. 2005; 19:27-34.