الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های انتروکوکوس مقاوم به ونکومایسین جداسازی شده از نمونه های گوشت و مدفوع در گاوداری های تهران

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

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
۲. میکروب شناس، استاد دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
۳. ویروس شناس، استادیار دانشکده علوم دانشگاه اصفهان
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 و نه

چکیده

سابقه و هدف: *انتروکوک ها به عنوان فلور نرمال دستگاه گوارش پستانداران و پرندگان، از مهم ترین عوامل رایج در ایجاد عفونت های بیمارستانی محسوب شده که با قابلیت ایجاد مقاومت به بیشتر آنتی بیوتیک ها، به معضلی در درمان بیماری ها تبدیل شده اند. با توجه به اهمیت عفونت های ایجاد شده توسط باکتریهای مقاوم در انسان و همچنین انتقال ژنهای مقاومت بین باکتری ها و انسان، دام و طیور به عنوان مخازن طبیعی مقاومت، مطرح می باشند. این مطالعه با هدف شناسایی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در میان ایزوله های انتروکوکوس جداسازی شده از گاوداری های تهران به انجام رسیده است.*

روش کار: *طی ۴ مرحله نمونه برداری از ۲ گاوداری اطراف تهران، ۱۶۵ ایزوله انتروکوکوس بر روی محیط Membrane Filter Enterococcus Selective Agar حاوی ۴،۲ µgr/ml و۸ ونکومایسین جداسازی و با استفاده از تست های بیوشیمیایی و پرایمرهای اختصاصی تا حد گونه شناسایی گردیدند. سپس تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی به دو روش دیسک دیفیوژن برای ۶ آنتی بیوتیک و همچنین MIC جهت سویه های مقاوم به ونکومایسین به روش micro-dilution با استفاده از توصیه های CLSI انجام گردید.*

یافته ها: *۸۶، ۵۷ و ۲۲ سویه بترتیب E. faecium، E. faecalis و E. gallinarum بودند. ۵۸ سویه نیز مقاوم به ونکومایسین بودند. مقاومت به آنتی بیوتیک های ونکومایسین، تتراسایکلین، جنتامایسین، کلرامفنیکل، سیپروفلوکساسین و اریترومایسین بترتیب ۳۵، ۲۷، ۲۴، ۱۵، ۳۹ و ۳۹درصد بود. MIC ۶۴٪ از سویه ها نیز برابر یا بیش از ۲۵۶ میکروگرم در میلی لیتر و در ۳۰٪ سویه های VRE نیز برابر یا بیش از ۱۲۸ میکروگرم در میلی لیتر بود.*

نتیجه گیری: *مانند بیشتر مطالعات انجام گرفته شیوع سویه های VRE محدود به ۳ گونه بود . E. faecium بالاترین شیوع و همچنین بالاترین میزان مقاومت را داشت که شامل طیف وسیعی از آنتی بیوتیک ها بود. نتایج این مطالعه نشان دهنده نقش بسیار مهم نمونه های دامی بعنوان مخزن بزرگی از ژن های مقاومت است، بنابراین باید نسبت به نظارت دقیق بر سیستم بهداشتی و غذایی توجه شایانی مبذول داشت.*

واژگان کلیدی: ***انتروکک، دام، تهران***

مقدمه

انتروکوکوس نه تنها یکی از اعضای مهم فلور نرمال دستگاه گوارش اکثر موجودات خون گرم نظیر انسان است، بلکه توانایی ایجاد زمینه های گسترده ای از بیماری های عفونی را دارا است و به عنوان یکی از عوامل عمده ایجاد کننده عفونت های جدی در بیماران بستری در بیمارستان مطرح می باشد(۴-۱). انتروکوکوس به عنوان یک باکتری مقاوم به بیشتر آنتی بیوتیک های مصرفی در درمان بیماریهاشناخته شده است که به سبب موتاسیون و یا دریافت اجزاء ژنتیکی از طریق انتقال پلاسمیدها یا ترانسپوزون ها، توانایی بالایی در کسب مقاومت داشته و قادر به انتشار ژن های مقاومت به سایر گونه ها است(۵و۶). نزدیک به ۲۰ گونه انتروکوک تا کنون شناسایی شده است اما تنها دو گونه E. faecalis و E. faecium از مهم ترین عوامل ایجاد کننده بیماری در انسان محسوب می گردند. انترو کوکوس ها دومین عامل ایجاد کننده عفونت های ادراری و سومین عامل باکتریمی در جهان هستندکه از نظر درمان نیز میکروارگانیسم مشکل سازی به حساب می آیند. ونکومایسین تنها دارویی است که در درمان عفونت های ناشی از انتروکوکهای مقاوم به چند دارو و همچنین استافیلوکوک های مقاوم به متی سیلین موثر بوده است(۷و۸).

افزایش شیوع عفونت های ناشی از انتروکوک ها مرتبط با استفاده از نسل سوم سفالوسپورین ها است. مصرف بدون کنترل مواد ضد میکروبی از جمله آنتی بیوتیک ها به عنوان مهم ترین فاکتور در گسترش و انتشار میکروارگانیسم های مقاوم شناخته شده است که سبب کاهش میکروفلور طبیعی دستگاه گوارش انسان و حیوانات می گردد(۹). بسیاری از عوامل ضد میکروبی که در دام پروری استفاده می شوند متعلق به آن دسته از مواد ضد میکروبی و آنتی بیوتیک هایی است که جهت درمان عفونت های ناشی از انتروکوک ها در انسان استفاده می شوند (نظیر آمپی سیلین، جنتا مایسین و ویرجینیامایسین). گسترش انتروکوکوس های مقاوم به ونکومایسین ممکن است که با استفاده از گلیکوپپتیدها به عنوان محرک رشد در غذای دام وطیور مرتبط باشد(۹).

Antimicrobial Growth Promoters (AGPs) آنتی بیوتیک هایی هستند که به غذای دام و طیور اضافه می شوند. این دسته از عوامل فلور نرمال دستگاه گوارش را که با میزبان در تغذیه رقابت دارند را کاهش داده و باکتری های مضری را که سبب کاهش کارایی گشته و گاهی بیماری ایجاد می کنند را از بین می برند. به همین سبب آنها را جزو فاکتورهای محرک رشد می نامند(۱۰). آووپارسین جزء AGPs بود که سالها در اروپا مورد استفاده قرار می گرفت. سویه های VRE توانایی انتقال از راه مواد غذایی تهیه شده آلوده را به انسان دارند. 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 دامها و همچنین تولیدات دامی کاهش یافته است(۹). به عنوان مثال تحقیقات در دانمارک نشان می دهد 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. 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 (۱۱). مطالعات نشان میدهد که انسان مقدار زیادی از VRE را در مدفوع خود داشته و ناقل آن محسوب می شود ولی دانشمندان نتوانستند که VRE را از نمونه مدفوعی افرادی که سال ها گیاه خوار بوده اند بیابند، که نظریه ای را که گوشت آلوده را به عنوان منبع VRE است تایید می کند(۱۰). در 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).یکی دیگر از عواملی که در مورد این دسته از باکتریها ایجاد نگرانی کرده است، اولین مورد گزارش شده از استاف اورئوس مقاوم به ونکومایسین یا VRSA در سال ۲۰۰۲ از امریکا بود که این مقاومت از طریق انتقال ژن های مقاوم به ونکومایسین به استاف اورئوس مقاوم به متی سیلین ایجاد شده است. بعد از آن، این گونه مقاوم، از سایر نقاط جهان نیز گزارش شده است. پتانسیل استاف به غیر قابل درمان شدن، یکی از دلایل مهم جهت کنترل شیوع VRE می باشد(۱۲).تحقیقات مختلف حاکی از آنست که بایستی به مخازن طبیعی انتروکوکوس های مقاوم، یعنی حیواناتی که در صنایع غذایی مطرح هستند توجه ویژه مبذول داشت. حیوانات به عنوان مخزن بزرگی از ژنهای مقاومت هستند که ممکن است این ژنها را به باکتری های ساپروفیت و یا حتی پاتوژن های خطرناک منتقل کنند.این مطالعه با هدف شناسایی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در میان ایزوله های انتروکوکوس جداسازی شده از گاوداری های تهران به انجام رسیده است.

روش کار

جهت انجام این مطالعه ۴ مرحله نمونه گیری از ۲ گاوداری موجود در ملارد و مهرشهر کرج در فاصله زمانی خرداد ۸۸ تا بهمن ۸۸ انجام گرفت. در مجموع ۱۶۵ ایزوله انتروکوک از ۲ منبع مختلف شامل گوشت و مدفوع جداسازی شد. این نمونه ها با استفاده از شیشه های درب دار استریل و همچنین محیط ترانسپورت جمع آوری شده و سپس در مجاورت یخ به آزمایشگاه نگین منتقل شدندو در مدت زمان کمتر از ۳ ساعت مورد بررسی های اولیه قرار گرفتند. جهت انجام این مطالعه از محیط اختصاصی انتروکوکوس Membrane Filter Enterococcus Selective Agar (Merck, Germany) حاوی۲و ۴ میکرگرم در میلی لیتر آنتی بیوتیک ونکومایسین (St. Louis, MO) و محیط فاقد آنتی بیوتیک استفاده شد. برای آماده سازی نمونه ها رقت های مختلف با استفاده از سرم فیزیولوژی استریل تهیه شدند و جهت فیلتراسیون از سیستم فیلتراسیون و فیلترهای غشایی با منافذی به قطر ۰/۴۵ میکرون (Millipore Corporation, Bedford, MA, USA) استفاده شد(۴-۱و ۱۷-۱۵).

محیط اختصاصی واجد فیلتر بمدت ۴۸-۳۶ ساعت در انکوباتور با دمای 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 در دمای ۴۵°C قرار گرفتند(۴-۱و ۱۷-۱۵). پس از این مرحله، کلنی های سیاه رنگی مشخص گردیدند که جهت خالص سازی انتخاب و بر روی پلیت های حاوی بلاد آگار کشت داده شدند و ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه انکوبه شدند. ایزوله های جداسازی شده از محیز بایل اسکولین با استفاده از آزمونهای کاتالاز، Pyrrolidonyl aminopeptidase (PYR)، رشد در محیط NaCl۶/۵٪ مورد بررسی قرار گرفتند. بنابراین سویه های کاتالاز منفی، بایل اسکولین و PYR مثبت که قابلیت رشد در محیط NaCl ۶/۵٪ و دمای ۴۵°C را داشتند؛ بعنوان جنس انتروکوکوس انتخاب و جهت تعیین افتراقی گونه های مختلف انتروکوک 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، استفاده شدند(۴-۱و ۱۷-۱۵).

پس از شناسایی اولیه گونه های مختلف، جهت تأیید این گونه ها از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و برنامه حرارتی، 4) 95°C min), 30 cycles {95°C (30 s), 52°C (1 min), 72°C (1 min)}, 72°C for 7 min، استفاده شد(۱۵). جهت استخراج DNA باکتریها از روش boiling استفاده شد (۱۵). بدین صورت که یک کلنی از هر سویه باکتری در ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر ورتکس شده به مدت ۱۵ دقیقه جوشانده شد.پس از سانتریفیوژ ۱۰ میکرولیتر از مایع رویی به عنوان sample جهت انجام آزمون PCR استفاده شد(۲و۱۵).

به منظوربررسی حساسیت دارویی در سویه های بدست آمده در این تحقیق ، از روش disk diffusion الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های مختلف نسبت به ۶ آنتی بیوتیک tetracycline (۳۰ میکروگرم)، gentamycin (۱۰ میکروگرم)، vancomycin (۳۰ میکروگرم)، ciprofloxacin (۵ میکروگرم)، erythromycin (۱۵ میکروگرم) و chloramphenicol (۳۰ میکروگرم) تعیین شد. سعی گردید که تمامی این مراحل با استفاده از استانداردهای Clinical Laboratory and Standard Institute (CLSI) انجام شوند(۱۸). 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(۱۹).

یافته ها

بر اساس نتایج بدست آمده ازتستهای بیوشیمیایی و ژنتیکی مختلف مربوط به تعیین جنس و گونه انتروکوکوس، جمعا ۱۶۵ ایزوله از ۴ مرحله نمونه گیری بدست آمد و ۳ گونه مختلف شناسایی شد. از کل ۱۶۵ ایزوله بدست آمده (۸۶ ایزوله) ۵۲٪ از ایزوله ها بعنوان E. faecium، (۵۷ ایزوله) ۳۵٪ از ایزوله ها بعنوان E. faecalis و (۲۲ ایزوله) ۱۳٪ از آنها بعنوان E. gallinarum شناسایی شدند. مطالعات نشان داد که این ۳ گونه نامبرده در هر ۲ گاوداری یکسان بوده و E. faecium گونه غالب بود و پس از آن گونه های E. faecalis و E. gallinarum در مراتب بعدی قرار داشتند.

میزان مقاومت آنتی بیوتیکی هر یک از گونه ها که به روش دیسک دیفیوژن نسبت به آنتی بیوتیک های نام برده انجام گرفته در جدول شماره ۱ قرار داده شده است. بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های اریترومایسین و سیپروفلوکساسین مشاهده شد که برابر بودند. مقاومت به ونکومایسین و تتراسایکلین و جنتامایسین نیز در مراتب بعدی قرار داشتند؛ و کلرامفنیکل نیز از کمترین میزان مقاومت برخوردار بود.

جدول شماره ۲ نشان دهنده الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های مقاوم به ونکومایسین بر اساس نوع گونه است. از ۵۸ سویه مقاوم به ونکومایسین یا VRE، E. faecium تقریبا ۴۲٪ از سویه های مقاوم را تشکیل داده و بعد از آن E. faecalis و E. gallinarum در مراتب بعدی قرار داشتند. از نظر مقاومت به تتراسایکلین مشاهده می شود که بالاترین مقاومت مربوط به E. faecium است و E. gallinarum و E. faecalis پس از آن قرار گرفته اند. از نظر مقاومت به جنتامایسین و کلرامفنیکل E. faecalis گونه غالب بود و بالاترین میزان مقاومت را نسبه به این ۲ آنتی بیوتیک نشان داد و گونه های E. faecium و E. gallinarum بترتیب کمترین میزان مقاومت را دارا بودند. E. gallinarum بالاترین میزان مقاومت را نسبت به سیپروفلوکساسین نشان داد و مقاومترین گونه نسبت به این آنتی بیوتیک بود، درحالیکه E. faecalis کمترین مقاومت را نسبت به این آنتی بیوتیک داشت. اما از نظر مقاومت به اریترومایسن نتایج نشان می دهند که E. faecium بالاترین مقاومت را داشته و گونه های فکالیس و گالیناروم در مراتب بعدی قرار داشتند.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سویه های VRE حداقل نسبت به ۲ آنتی بیوتیک مقاومت داشتند و هیچ کدام از سویه های VRE حساس به هیچکدام از آنتی بیوتیک های دیگر نبودند. از نظر مقاومت نسبت به ۶ آنتی بیوتیک مورد استفاده قرار گرفته در این مطالعه، ۵ سویه از گونه E. faecium و ۴ سویه از گونه E. faecalis و ۱ سویه از گونه E. gallinarum به هر ۶ آنتی بیوتیک مقاوم بودند و سویه های بسیار مقاومی به شمار می آیند که MIC آنها نسبت به ونکومایسین نیز بسیار بالا بود. ۱۸ سویه نسبت به ۵ آنتی بیوتیک مقاوم بودند و حساس به کلرامفنیکل بودند. ۲۵ سویه نسبت به ۴ آنتی بیوتیک مقاوم بودند. و مابقی سویه ها نیز به ۲ و یا ۳ آنتی بیوتیک مقاوم بودند.

پس از انجام آزمون MIC نسبت به آنتی بیوتیک ونکومایسین بر روی ۳۹ سویه VRE مشخص شد که ۶۵٪ سویه ها مقاومت بالایی (MIC برابر یا بیش از ۲۵۶ میکروگرم در میلی لیتر) نسبت به ونکومایسین دارند. ۳۰٪ از سویه ها MIC برابر یا بیش از ۱۲۸ میکروگرم در میلی لیتر و ۵٪ از سویه های VRE نیز MIC برابر یا بیش از ۳۲ میکروگرم در میلی لیتر داشتند.

جدول شماره ۱. مقاومت آنتی بیوتیکی در میان ایزوله های مختلف

آنتی بیوتیک	تعداد	درصد
اریترومایسین	۶۵	۳۹
سیپروفلوکساسین	۶۵	۳۹
ونکومایسین	۵۸	۳۵
تتراسایکلین	۴۵	۲۷
کلرامفنیکل	۲۵	۱۵
جنتامایسین	۴۰	۲۴

جدول شماره ۲. مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های VRE بر اساس نوع گونه

آنتی بیوتیک / گونه	ونکومایسین	تتراسایکلین	جنتامایسین	سیپروفلوکساسین	اریترومایسین	کلرامفنیکل	تعداد
E. gallinarum	۴	۲	۱	۴	۳	۱	۸
E. faecalis	۱۸	۷	۱۱	۱۵	۱۷	۹	۱۲
E. faecium	۳۶	۱۹	۱۸	۳۴	۳۶	۱۲	۱۹

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده این است که شیوع گونه های VRE در ایران در میان دام ها، متنوع تر از نمونه های بدست آمده از فاضلاب و نمونه های بیمارستانی است و مشابه تنوعی است که در مطالعه انجام گرفته توسط نویسندگان این مطالعه بر روی ماکیان انجام گرفته است(۱و۲و۴ و ۱۷-۱۵).

E. faecium و E. faecalis و E. gallinarum ۳ گونه شایع در میان نمونه های دامی بوده 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(۱و۲و۴ و ۱۷-۱۵). در نمونه های بالینی، E. faecalis از شیوع بالاتری از E. faecium و سایرگونه ها برخوردار است.

E. faeciumدر اکثر مطالعات بالینی و محیطی که در جداسازی سویه ها از آنتی بیوتیک استفاده نشده است، جزو اولین و شایع ترین سویه هایی است که قابل جداسازی است. همان گونه که انتظار می رفت در این مطالعه سویه E. faecium گونه غالب بود و بالاترین شیوع را داشت و پس از آن E. faecalis در مرتبه دوم قرار داشت. اما در مورد سویه های VRE علیرغم 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(۱و۲و۴ و ۱۷-۱۵)؛ که این امر می تواند ناشی از قابلیت و توانایی بالای گونه فسیوم در کسب مقاومت نسبت به عوامل ضدمیکروبی و مجهز بودن به انواع متنوع تری از فاکتورهای ویرولانس نسبت به سایر گونه های انتروکوک 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 بررسی شده در این تحقیق بالاتراز حد انتظار 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 ۳۵٪ بود که در مقایسه با سایر مطالعاتی که در سراسر دنیا انجام گرفته است این میزان متفاوت و متغیر است. در مقایسه با مطالعاتی که در ایران انجام گرفته است این میزان بسیار بالاتر است (۱و۲و۴ و ۱۷-۱۵)، که شاید دلیل این تفاوت استفاده از محیط هایی یا بالاترین غلظت های آنتی بیوتیک ونکومایسین جهت غربالگری سویه های VRE است. همچنین در تحقیقی که در سال ۲۰۰۵ در اتریش انجام گرفته، سویه های VRE مشاهده شده در نمونه های احشام ۲۱/۶٪، نمونه خوک ۲۳/۳٪ و نمونه مربوط به جوجه ۷۷/۱٪ است (۹). Kuhn در سال ۲۰۰۵ بر روی نمونه های بالینی، دامی و محیطی در اروپا میزان مقاومت به ونکومایسین را ۱۱-۸٪ نشان داد (۲۰).

استفاده گسترده از آنتی بیوتیک ها با افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی همراه است که می تواند علت انتشار سویه های مقاوم به ونکومایسین در اروپا و امریکا باشد. به دلیل استفاده بی رویه گلیکوپپتیدها در مراکز درمانی و به دنبال آن انتخاب این سویه ها در دستگاه گوارش انسان و کلونیزه کردن دستگاه گوارش افراد و 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، باکتری های مقاوم به مواد ضد میکروبی و همچنین انتروکوک های مقاوم در حال رشد هستند(۱و۲و۴و۲۰). تعیین میزان مقاومت به کلاس های مختلف از مواد آنتی بیوتیکی (هم داروهای مربوط به دامپزشکی و هم داروهای استفاده شده در زمینه پزشکی) بسیار مهم است.

در مجموع ۱۶۵ ایزوله، ۳۵٪ مقاومت به سیپروفلوکساسین مشاهده شد. از این آنتی بیوتیک در درمان غفونت های دستگاه ادراری استفاده می شود و به جهت موثر بودن درمان، جزو آنتی بیوتیک های پر مصرف است. برخلاف انتظار، در مورد مقاومت به این آنتی بیوتیک مشاهده شد که بالاترین مقاومت مربوط به گونه E. gallinarum بود و گونه های فسیوم و فکالیس پس از آن قرار داشتند. دلیل این امر شاید نزدیکی این دام داری با مرغ داری باشد که می تواند نشان دهنده بحث انتقال افقی ژنها در میان گونه های مختلف انتروکوک و همچنین احتمالا یکی بودن گونه های گالیناروم جدا شده از دام داری و مرغ داری باشد، چون در نمونه ای که از مرغ داری بدست آمده است گونه گالیناروم مقاومت بالایی به سیپروفلوکساسین نشان داد. از نظر مقایسه با نمونه های فاضلابی و بالینی در ایران، این مقدار بالاتر است(۱و۲و۴ و ۱۷-۱۵). 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(۲۴).

اریترو مایسین نیز دارای میزان مصرف بالا در ایران است. همچنین به عنوان AGPs در غذای دام و طیور مورد استفاده قرار می گیرد. مقاومت مشاهده شده در این تحقیق به اریترومایسین، ۳۵٪ است، که مقاومت متفاوتی را نسبت به سایر مطالعات در دنیا نشان می دهد (۲۶-۲۱).

به طور کلی میزان مقاومت به جنتامایسین ۲۴٪ است. سویه غالب مقاوم به جنتامایسین همانطور که پیش بینی می شد فسیوم است. مطالعات Khan و همکارانش در سال ۲۰۰۴ در آمریکا میزان مقاومت به جنتامایسین را حدود ۹۶٪ نشان می دهد (۲۶). Liassine و همکاران در سال ۱۹۹۸در سویه های یافت شده در فاضلاب بیمارستانی در سوییس، میزان مقاومت را در حدود ۴٪ گزارش می دهند(۲۵). در ایران مقاومت به جنتامایسین بسیار پایین تر بود(۱و۲و۴).

۲۷٪ مقاومت به تتراسیکلین در این تحقیق مشاهده شد که رقم بالایی است. در کل میزان مقاومت به تتراسیکلین در کل دنیا بسیار متغیر است. در سوییس و امریکا بسیار بالاست و در ایران، پرتغال و فرانسه این میزان کمتر است(۱و۲و۴و۲۳و۲۶).

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.

انتروکوکوس ها می توانند در حیوانات سالم نیز کلنیزه شوند که در آن صورت به یک منبع نگران کننده از باکتری و ژنهای مقاومت تبدیل میشوند. 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؛ سلامت عمومی جامعه ممکن است با انتقال VRE بویژه اگر میکروارگانیسم از طریق مدفوعی به آب های سطحی انتقال یابد، در معرض تهدید قرار گیرد. زیرا این آب ها ممکن است بدون هیچگونه توجهی مورد مصرف قرار گیرند(۴-۱و ۱۷-۱۵).

نتیجه گیری

پیدایش سویه های انتروکوکوس چند مقاومتی، به معضلی در جامعه پزشکی تبدیل شده است. با به کار گیری روشهایی کنترل انتقال افقی ژنها و استفاده صحیح و منطقی از آنتی بیوتیکها و همچنین توجه به نقش بسیار مهم نمونه های دامی، بعنوان مخازن شاخصهای مقاومت می تواند اثر بسزایی در کاهش روند رو به رشد مقاومت داشته باشد. و با توجه به قابل انتقال بودن شاخصهای مقاومت به ونکومایسین در میان حیوان، انسان و محیط؛ بنابراین باید نسبت به نظارت دقیق بر سیستم بهداشتی و غذایی توجه شایانی مبذول داشت.

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله برخود لازم می دانند که مراتب قدردانی و سپاسگزاری خود را از اساتید محترم جناب آقای دکتر محمدرضا پورشفیع از انستیتو پاستور ایران و پروفسور محمد کتولی از دانشگاه سان شاین کوست استرالیا به جهت راهنمایی ها و ارشادات ایشان 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 .Henrik C, Wengener, Frank M, Aarestrup, Lars Bogo, Jensen, Anette M, Hammerum and Flemming Bager. Use of antimicrobial promoters in food animals and Enterococcus faecium resistance to therapeutic antimicrobial drugs in Europe. Emereg Infect Dis. 1999; 5:329-335.

11. 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.

12. Vancomycin /Glycopeptid Resistant Enterococci (VRE/GRE) Guidelines Approved by Infection Control committee. Version 1. 5th Agust 2009. Nottingham University Hospitals. Nottingham, UK.

13. 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.

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

15. 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.

16. 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.

17. 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.

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

19. 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.

20. 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.

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

22. 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

23. 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.

24. 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.

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

26. 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 Prob. 2005; 19:27-34.