ORIGINAL ARTICLE

Distribution Rates and Antibiotic Resistance Pattern of Enterococcus Spp. Isolated from Clinical Specimens of Hospitals in Hamedan

Mohammad Najafi Mosleh[1],
Mona Nasaj[2],
Fateh Rahimi[3],
Mohammad Reza Arabestani[4]

[1] Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran
[2] MSc Student in Microbiology, Faculty of Medicine, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Science, University of Isfahan
[4] Assistant Professor, Department of Microbiology, Brucellosis research Center, Faculty of Medicine, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran

(Received April 13, 2014 ; Accepted September 28, 2014)

Abstract

Background and purpose: Multi-resistant enterococci are important nosocomial pathogens that are shown to have high prevalence in recent years. Knowledge of antimicrobial resistance pattern is essential to formulate treatment guidelines for infections caused by enterococci. The aim of this study was to investigate the antimicrobial resistance among enterococci isolated from Hamedan hospitals.

Material and methods: The study was carried out during 2012-2014 in 242 *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* Strains isolated from clinical specimens of teaching inpatients and outpatients hospitals in Hamedan. Identified species by biochemical methods were confirmed by PCR. Antibiotic resistance was performed by disk diffusion. MIC (Minimum Inhibitory Concentration) of vancomycin and Teicoplanin were determined by Microdilution Broth method.

Results: A total of 280 enterococcal isolates were studied of which, 175 (62.5%) were identified as *Enterococcus faecalis,* 67(24%) as *Enterococcus faecium*, and 38(13.5%) *as Enterococcus* spp. No resistance to Linezolid and Nitrofurantoin was detected among *E.faecalis* isolates. All isolates of *E. faecium* were susceptible to Linezolid. Resistance rates to ampicillin, Vancomycin, Teicoplanin, ciprofloxacin, erythromycin, Norfloxacin, gentamicin and Nitrofurantoin were found higher in *E.faecium* isolates than those of the *E.faecalis* group.

Conclusion: Due to the high prevalence of Vancomycin-resistant enterococci and also increasing resistance of enterococcus to most common antibiotics, there is a need for preventive and control measurements. Therefore, antibiotic susceptibility testing is recommended for all patients before prescription of appropriate antibiotics.

Keywords: *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, antibiotic resistance, minimal inhibitor concentration

J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(117): 92-102 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و چهارم شماره ۱۱۷ مهر سال ۱۳۹۳ (۱۰۲-۹۲)

بررسی میزان پراکندگی و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های انتروکوک جدا شده از نمونه های بالینی بیمارستان های آموزشی شهر همدان

محمد نجفی مصلح [۱]
منا نساج [۲]
فاتح رحیمی [۳]
محمدرضا عربستانی [۴]

چکیده

سابقه و هدف: انتروکوک‌های دارای مقاومت دارویی چندگانه، به عنوان پاتوژن‌های مهم بیمارستانی در حال افزایش می‌باشند. آگاهی از الگوی مقاومت ضد میکروبی در تدوین دستورالعمل‌های درمان عفونت‌های انتروکوکی ضروری می‌باشد. در این مطالعه مقاومت ضد میکروبی انتروکوک‌های ایزوله شده از بیمارستان‌های آموزشی شهر همدان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: این تحقیق بر روی ۲۴۲ سویه انتروکوک فکالیس و انتروکوک فاسیوم جدا شده از نمونه‌های بالینی بیماران بستری و سرپایی در بیمارستان‌های آموزشی شهر همدان در طی سال های ۱۳۹۳-۱۳۹۱ انجام گرفت. گونه‌های شناسایی شده به روش بیوشیمیایی، با استفاده از روش مولکولی PCR تایید شدند. الگوی مقاومت دارویی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن انجام شد و حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC: Minimum InhibitoryConcentration) آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین و تیکوپلانین به روش Microdilution Broth انجام گرفت.

یافته‌ها: ز ۲۸۰ سویه انتروکوک، ۱۷۵ سویه (۶۲/۵ درصد) به عنوان گونه انتروکوک فکالیس، ۶۷ سویه (۲۴ درصد) به عنوان گونه انتروکوک فاسیوم و ۳۸ سویه (۱۳/۵ درصد) تا حد جنس انتروکوک شناسایی شدند. هیچ‌گونه مقاومتی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های نیتروفورانتوئین و لینه زولید در بین سویه‌های انتروکوک فکالیس مشاهده نشد و تمامی سویه‌های انتروکوک فاسیوم به آنتی بیوتیک لینه زولید حساس بودند. میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، ونکومایسین، تیکوپلانین، اریترومایسین، سیپروفلوکساسین، نورفلوکساسین، جنتامایسین و نیتروفورانتوئین در سویه‌های انتروکوک فاسیوم بیش‌تر از سویه‌های انتروکوک فکالیس شناسایی شد.

استنتاج: با توجه به فراوانی بالای سویه‌های انتروکوک مقاوم به ونکومایسین و هم‌چنین مقاومت در حال افزایش انتروکوک‌ها نسبت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های معمول، ضرورت کاربرد اقدامات کنترلی و پیشگیرانه وجود دارد. به منظور تجویز مناسب آنتی‌بیوتیک، انجام آزمون آنتی‌بیوگرام برای هر بیمار قبل از درمان پیشنهاد می‌گردد.

واژه های کلیدی: انتروکوک فکالیس، انتروکوک فاسیوم، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، حداقل غلظت مهارکنندگی

مقدمه

انتروکوک‌ها کوکسی‌های گرم مثبت بی‌هوازی تخمیری می‌باشند که به‌صورت کوکسی‌های زنجیره‌ای و یا منفرد مشاهده می‌شوند. انتروکوک‌ها فلور طبیعی روده پرندگان، انسان و حیوانات هستند و هم‌چنین می‌توانند

مولف مسئول: محمدرضا عربستانی– همدان: خیابان شهید فهمیده، روبروی پارک مردم، دانشگاه علوم پزشکی همدان E-mail: mohammad.arabestani@gmail.com
۱. استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، همدان، ایران
۲. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی، همدان، ایران
۳. استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۴. استادیار، گروه میکروب شناسی، عضو مرکز تحقیقات بروسلوز، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، همدان، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۳/۱/۲۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۳/۴/۱۶ تاریخ تصویب : ۱۳۹۳/۷/۶

در حفره دهان، روده، واژن انسان‌ها و محیط زیست نیز زندگی کنند(۱). شایع‌ترین گونه انتروکوک ایزوله شده از نمونه‌های بالینی، گونه انتروکوک فکالیس و بعد از آن انتروکوک فاسیوم می‌باشد که به ترتیب ۱۰- ۵ درصد و ۹۰-۸۰ درصد ایزوله‌ها را شامل می‌شوند(۲).

انتروکوک‌ها بر خلاف ویرولانس ضعیف‌شان، مسئول اکثر عفونت‌های اکتسابی بیمارستانی و جامعه می‌باشند که شایع‌ترین عفونت‌های بیمارستانی ایجاد شده توسط این ارگانیسم‌ها شامل عفونت‌های دستگاه ادراری و به دنبال آن عفونت‌های لگنی و داخل شکمی، عفونت‌های زخم جراحی، باکتریمی، اندوکاردیت، سپسیس نوزادان و به ندرت مننژیت می‌باشد(۳،۲).

این میکروارگانیسم‌ها خصوصاً انتروکوک فاسیوم مقاومت در حال افزایشی را به بسیاری از عوامل ضد میکروبی از جمله پنی‌سیلین‌ها، آمینوگلیکوزیدها (مقاومت سطح بالا) و گلیکوپپتیدها نشان می‌دهد(۲). یکی از دلایل مهم که این ارگانیسم‌ها در محیط بیمارستان زنده می‌مانند، مقاومت ذاتی و اکتسابی آن‌ها به طیف گسترده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. انتروکوک‌ها ذاتاً به پنی‌سیلین‌های حساس به پنی‌سیلیناز (سطح پایین)، پنی‌سیلین‌های مقاوم به پنی‌سیلیناز، سفالوسپورین‌ها، سولفانامیدها، کلیندامایسین و به غلظت‌های پایین آمینوگلیکوزیدها مقاومند. مقاومت اکتسابی انتروکوک‌ها به پنی‌سیلین‌ها، کلرامفنیکل، تتراسایکلین‌ها، آمینوگلیکوزیدها (سطح بالا) و ونکومایسین از طریق موتاسیون یا با انتقال پلاسمید یا ترانسپوزون ایجاد می‌شود. مقاومت به بسیاری از بتالاکتام‌ها در نتیجه تولید بیش از حد و تغییر *Penicilin Binding Proteins (PBPs)* خصوصاً *PBP5*، با میل ترکیبی پایین به این آنتی‌بیوتیک‌ها ایجاد می‌شود(۴).

مقاومت انتروکوک‌ها به غلظت‌های بالای آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی معمولاً به دلیل آنزیم دو عملکردی *AAC(6□)-APH(2□)* با دو فعالیت آمینوگلیکوزید استیل ترانسفراز و آمینوگلیکوزید فسفو ترانسفراز می‌باشد که این آنزیم مقاومت سطح بالا به جنتامایسین و آمینوگلیکوزیدهای دیگر غیر از استرپتومایسین را القا می‌کند(۶،۵). مقاومت اکتسابی به گلیکوپپتیدها به دلیل ۶ ژن *VanD-VanE--VanL* *VanA-VanB-VanG* می‌باشد(۷). از بین ژنوتیپ‌های مقاومت به ونکومایسین، *VanB* و *VanA* دارای بیش‌ترین اهمیت بالینی هستند و عمدتاً در انتروکوک فاسیوم شناسایی شده‌اند(۸،۲). سویه‌های تیپ *VanA* مقاومت قابل القاء سطح بالا به ونکومایسین و تیکوپلانین را نشان می‌دهند، در حالی که سویه‌های تیپ *VanB* میزان متغیری از مقاومت قابل القاء به ونکومایسین را نشان می‌دهند(۷).

سویه های *(Vancomycin-Resistance Enterococci)* *VRE* در ایران نیز همانند بسیاری از کشورهای دیگر با میزان عوارض و نسبت مرگ و میر بالایی خصوصاً در بیماران نقص ایمنی همراه است. عمدتاً درمان مناسب عفونت‌های انتروکوکی به دلیل فقدان اطلاعات کافی در مورد شیوع *VRE* و میزان مقاومت گلیکوپپتیدی آن‌ها به تدریج مشکل می‌شود(۹).

لذا با توجه به عدم دسترسی به اطلاعات دقیق در منطقه و به منظور تعیین شیوع انتروکوک‌های مقاوم به ونکومایسین و تعیین مقاومت چند دارویی، این مطالعه بر روی سویه‌های انتروکوک فاسیوم و انتروکوک فکالیس جدا شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان‌های آموزشی شهر همدان طی سال های ۱۳۹۳-۱۳۹۱ انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها: این پژوهش توصیفی بر روی ۱۷۵ سویه انتروکوک فکالیس و ۶۷ سویه انتروکوک فاسیوم به دست آمده از نمونه‌های بالینی بیماران سرپایی و بستری در بیمارستان‌های آموزشی شهر همدان طی سال‌های ۱۳۹۳-۱۳۹۱ انجام گرفت. با توجه به جدول شماره ۱ که توزیع فراوانی سویه‌های انتروکوک را بر حسب نوع نمونه بالینی نشان می‌دهد، سویه‌های

انتروکوک دارای بیش‌ترین فراوانی در نمونه‌های ادرار بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های آموزشی شهر همدان بودند (۸۲/۶ درصد) و مایعات بدن دارای کم‌ترین تعداد سویه‌های انتروکوک بودند (۲/۱ درصد).

جدول شماره ۱: توزیع فراوانی سویه های انتروکوک بر حسب نوع نمونه بالینی

نوع نمونه	درصد (تعداد)
ادرار	۲۰۰ (۸۲/۶)
تراشه	۱۷ (۷)
خون	۸ (۳/۳)
زخم	۶ (۲/۵)
آبسه و ترشحات روی	۶ (۲/۵)
مایعات بدن	۵ (۲/۱)
جمع	۲۴۲ (۱۰۰)

جداسازی و شناسایی سویه‌ها: شناسایی جنس انتروکوک بر اساس رنگ‌آمیزی گرم، واکنش کاتالاز، رشد در حضور Nacl ۶/۵ درصد، هیدرولیز اسکولین در حضور صفرا و فعالیت آنزیم پیرولیدونیل آریل آمیداز (PYR) انجام شد. برای تعیین گونه از تست حرکت، دکربوکسیلاسیون آرژینین در محیط مولر دکربوکسیلاز، آزمون تخمیر قندهای آرابینوز، مانیتول، سوربیتول، سوربوز و لاکتوز در محیط پایه قندی حاوی معرف فنل رد به نسبت ۱ درصد از قندهای ذکر شده و انکوبه کردن در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت استفاده شد(۱۰). در مرحله بعد به منظور تایید گونه‌های انتروکوک فکالیس و انتروکوک فاسیوم با هدف ژن *D-Alanine-D-Alanine Ligases* اختصاصی *E.faecalis* با توالی F:5-ATCAAGTACAGTTAGTCTTTATTAG-3 و توالی R:5-ACGATTCAAAGCTAACTGAATCAGT-3 و *E.faecium* با توالی F:5-TTGAGGCAGACCAGATTGACG-3 و توالی R:5 TATGACAGCGACTCCGATTCC-3، PCR انجام شد(۸).

استخراج DNA: استخراج *DNA* کروموزوم باکتری، توسط روش معرفی شده توسط Roberta Creti و همکارانش در ایتالیا در سال ۲۰۰۴ (Boilling) انجام شد: ۵ -۳ کلونی از کشت تازه باکتری به μL ۵۰۰ آب مقطر تزریقی استریل در یک ویال ۱/۵ میلی‌لیتری اضافه شد، سپس سوسپانسیون یکنواختی از باکتری با استفاده از شیکر تهیه شد. در مرحله بعد جوشاندن سوسپانسیون میکروبی در بن ماری جوش (۱۰۰°C) به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه انجام شد. در انتها سانتریفوژ سویه‌ها با دور ۱۴۰۰۰rpm به مدت ۵ دقیقه و انتقال مایع رویی به عنوان *DNA* استخراج شده به یک میکروتیوپ استریل انجام شد(۱۱).

انجام آزمون PCR برای تعیین ژن های ddl E.faecium و ddl E.faecalis

برای انجام آزمون PCR از کیت آماده PCR مسترمیکس (PCR 2X Taq premix Mastermix) تهیه شده از شرکت آریا طوس بیوتک استفاده شد. واکنش PCR ژن‌های موردنظر *ddl E.faecalis* و *ddl E.faecium* با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر DNA الگو، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر، ۱۰ میکرولیتر مستر میکس، ۶ میکرولیتر آب دو بار تقطیر با استفاده از دستگاه ترموسایکلر eppendorf و Biorad انجام گرفت. شرایط بهینه PCR برای هر دو ژن به شرح زیر بود: دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵°C به مدت ۵ دقیقه، دناتوراسیون ثانویه در دمای ۹۵°C به مدت ۳۰ ثانیه، دمای آنلینگ در دمای ۵۲.۵°C به مدت ۳۰ ثانیه و طویل شدن اولیه در دمای ۷۲°C به مدت ۳۰ ثانیه که این چرخه‌ها ۳۰ بار تکرار شد و طویل شدن ثانویه در دمای ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. از ژل آگارز ۱ درصد و سایز مارکر ۱۰۰ bp (Fermentase، آلمان) و سایبر سیف (سیناژن، ایران)، برای الکتروفورز محصولات PCR جهت شناسایی ژن *ddl E.faecium* با طول قطعه ۶۵۸ bp و ژن *ddl E.faecalis* با طول قطعه ۹۴۱ bp استفاده شد. در این مطالعه از *E.faecalis ATCC 29212* و *E.faecium BM4147* به عنوان سویه‌های کنترل مثبت استفاده شد و از آب دوبار تقطیر به جای *DNA* سویه کنترل منفی استفاده گردید.

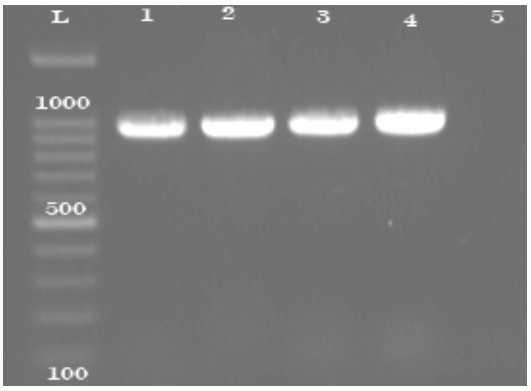
تعیین حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی: تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ۱۷۵ سویه انتروکوک فکالیس و ۶۷ سویه انتروکوک فاسیوم با تهیه سوسپانسیون میکروبی با کدورت ۵ درصد مک فارلند به روش انتشار دیسک (Disk diffusion) و با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی در محیط Muller Hinton agar انجام شد. دیسک‌های مورد استفاده در این مطالعه شامل: ونکومایسین (۳۰ µg)، تیکوپلانین (۳۰ µg)، اریترومایسین(۱۵ µg)، تتراسایکلین (۳۰µg)، سیپروفلوکساسین (۵µg)، نورفلوکساسین (۱۰µg)، نیتروفورانتوئین (۳۰۰ µg)، سینرسید (۱۵ µg)، تهیه شده از شرکت Mast انگلستان، جنتامایسین (۱۰ µg)، آمپی‌سیلین (۱۰µg)، لینه زولید (۳۰ µg) وکلرامفنیکل (۳۰µg) تهیه شده از شرکت Himedia می‌باشند(۱۳،۱۲).

تعیین MIC آنتی بیوتیک‌های گلیکوپپتیدی ونکومایسین و تیکوپلانین: تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC)، به روش Microdilution Broth و با استفاده از محیط کشت Cation Adjustmented Muller Hinton Broth (CAMHB) طبق استاندارد NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) برای دو آنتی‌بیوتیک ونکومایسین و تیکوپلانین انجام گرفت. برای ونکومایسین غلظت بیش‌تر از ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر مقاوم، غلظت ۱۶-۸ میکروگرم در میلی‌لیتر حد واسط و غلظت کم‌تر از ۴ حساس تفسیر شد. برای تیکوپلانین غلظت بیش‌تر از ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر مقاوم، غلظت ۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر حد واسط و غلظت کم‌تر از ۸ میکروگرم در میلی‌لیتر حساس تفسیر شد(۱۳،۱۲).

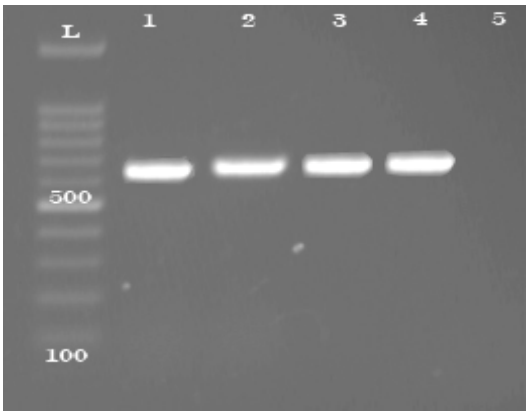
تجزیه و تحلیل داده‌ها: برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ و از رابطه کای اسکوئر و ضریب همبستگی پیرسون با سطح معنی‌داری $p \leq ۰/۰۵$ استفاده شد.

یافته ها

جمع‌آوری و ایزولاسیون سویه‌ها: به روش بیوشیمیایی، از تعداد ۲۸۰ سویه انتروکوک، ۱۹۰ سویه به عنوان گونه انتروکوک فکالیس و ۷۵ سویه به عنوان گونه انتروکوک فاسیوم و ۱۵ سویه نیز در حد جنس شناسایی شدند که ۱۷۵ گونه انتروکوک فکالیس (۶۲/۵ در صد) و ۶۷ گونه انتروکوک فاسیوم (۲۴ درصد) به روش مولکولی PCR مورد تایید قرار گرفتند و مجموعاً ۳۸ سویه (۱۳/۵ درصد) نیز تا حد جنس انتروکوک باقی ماندند (تصویر شماره ۱). توزیع فراوانی سویه‌های انتروکوک در بخش‌های مختلف بیمارستان‌های آموزشی شهر همدان نشان می‌دهد که بیش‌ترین میزان شیوع سویه‌های انتروکوک در بخش داخلی (۳۹/۳ درصد) و کم‌ترین میزان شیوع سویه‌های انتروکوک در بخش‌های سوختگی، جراحی و مراقبت قلبی (۱/۲ درصد) بیمارستان‌های آموزشی این شهر می‌باشد (جدول شماره ۲).



a



b

تصویر شماره ۱: الکتروفورز محصولات PCR ژن های ddlE.faecium و ddlE.faecalis . ***a:*** مربوط به الکتروفورز محصولات PCR ژن ddlE.faecalis می باشد. **B:** مربوط به الکتروفورز محصولات PCR ژن ddlE.faecium می باشد.

طـول محصـول PCR ژن‌هـای ddlE.faecium و ddlE.faecalis بـه ترتیب ۶۵۸bp و ۹۴۱ bp می باشد.

DNA Ladder100bp (L)
Control Posetive (1)
Samples (2, 3, 4)
Negative control (5)

جدول شماره ۲: توزیع فراوانی سویه های انتروکوک جدا شده از بیمارستان های همدان به تفکیک بخش های مختلف بیمارستان

بخش های بیمارستان	تعداد (درصد)
داخلی	۹۵ (۳۹/۳)
سرپایی	۷۲ (۲۹/۸)
نفرولوژی	۲۶ (۱۰/۷)
ICU	۲۲ (۹/۱)
اورژانس	۲۱ (۸/۷)
سوختگی	۳ (۱/۲)
جراحی و مراقبت قلبی	۳ (۱/۲)
جمع	۲۴۲ (۱۰۰)

نتـایج حاصـل از تعیـین مقاومـت آنتـی‌بیـوتیکی بـه روش انتشار دیسک

در تعیین الگـوی مقاومـت آنتـی‌بیـوتیکی بـه روش انتشار دیسک، از ۱۲ آنتی‌بیوتیک استفاده شـده و میـزان حساسیت و مقاومت ۱۷۵ سـویه انتروکـوک فکـالیس و ۶۷ سویه انتروکوک فاسیوم مورد بررسی نسـبت بـه ایـن آنتـی‌بیوتیـک‌هـا مشـخص گردیـد. جهـت کنتـرل کیفـی دیسـک‌هـا و محـیط کشـت مـولر هینتـون از سـویه‌هـای کنترلـی *E.faecalis: ATCC 29212* و *E.faecalis: ATCC 51299* (سـویه مقـاوم بـه ونکومایسین)، استفاده شد و هاله‌های عدم رشد با جدول CLSI مطابقـت داده شـد. نتـایج بـه‌دسـت آمـده از آنتی‌بیوگرام سویه‌ها مطابق با دستورالعمل CLSI مطـابق جدول شماره ۳ می‌باشد(۱۳).

تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC)

نتـایج MIC آنتـی بیوتیـک‌هـای ونکومایسـین و تیکـوپلانین در ۱۷۵ سـویه انتروکـوک فکـالیس و ۶۷ سویه انتروکوک فاسیوم در جدول ۴ آورده شده است.

جدول شماره ۳: الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های انتروکوک فکالیس و انتروکوک فاسیوم

دیسک های آنتی بیوتیکی	انتروکوک فکالیس			انتروکوک فاسیوم			مجموع		
	حساس (درصد)	نیمه حساس (درصد)	مقاوم (درصد)	حساس (درصد)	نیمه حساس (درصد)	مقاوم (درصد)	حساس (درصد)	نیمه حساس (درصد)	مقاوم (درصد)
ونکومایسین	۹۵	۰	۵	۲۴	۰	۷۶	۷۵/۲	۰	۲۴/۸
تیکوپلاتین	۹۵	۰	۵	۲۷	۰	۷۳	۷۶	۰	۲۴
آمپی سیلین	۹۶/۶	–	۳/۴	۳۷/۳	–	۶۲/۷	۸۰/۲	–	۱۹/۸
تتراسایکلین	۹/۷	۲/۳	۸۸	۲۱	۶	۷۳	۱۲/۸	۳/۳	۸۳/۹
سیپروفلوکساسین	۳۶/۶	۲۴	۳۹/۴	۰	۱۹/۴	۸۰/۶	۲۶/۵	۲۲/۷	۵۰/۸
نورفلوکساسین	۶۳	۴	۳۳	۰	۱۶/۴	۸۳/۶	۴۵/۵	۷/۴	۴۷/۱
اریترومایسین	۲۶/۳	۱۱/۴	۶۲/۳	۰	۱۳/۴	۸۶/۶	۱۹	۱۲	۶۹
سیپرسید	۴/۶	۰	۹۵/۴	۲۴	۶	۷۰	۱۰	۱/۶	۸۸/۴
کلرامفنیکل	۵۴/۳	۱۳/۱	۳۲/۶	۷۴/۶	۱۵	۱۰/۴	۶۰	۱۳/۶	۲۶/۴
جنتامایسین	۵۶	۸	۳۶	۱/۵	۶	۹۲/۵	۴۱	۷/۴	۵۱/۶
نیتروفورانتوئین	۱۰۰	۰	۰	۷۴/۶	۰	۲۵/۴	۹۳	۰	۷
لینه زولید	۱۰۰	۰	۰	۱۰۰	۰	۰	۱۰۰	۰	۰

جدول شماره ۴: فراوانی حداقل غلظت مهارکنندگی سویه های انتروکوک فکالیس و انتروکوک فاسیوم نسبت به آنتی بیوتیک های ونکومایسین و تیکوپلانین

	انتروکوک فکالیس				انتروکوک فاسیوم			
	ونکومایسین		تیکوپلاتین		ونکومایسین		تیکوپلاتین	
غلظت MIC µg/ml	۵۱۲،≥۵۱۲	۱-۲-۴	۲۵۶،۵۱۲ ≥۵۱۲	۱-۲-۴	۵۱۲≥۵۱۲	۸	۲۵۶،۵۱۲،≥۵۱۲	۲-۴-۸
وضعیت حساسیت	مقاوم	حساس	مقاوم	حساس	مقاوم	نیمه حساس	مقاوم	حساس
MIC (µg/ml)	≥۳۲	≤۴	≥۳۲	≤۸	≥۳۲	۸-۱۶	≥۳۲	≤۸
تعداد	۶ ،۳	۷،۱۲۶،۳۳	۳،۴،۲	۱۲،۱۲۷،۲۷	۶ ،۴۳	۲	۹،۲۵،۱۵	۱۳،۳،۲
درصد	۳/۴ ،۱/۷	۴،۷۲،۱۹	۱/۷، ۲/۳، ۱	۷، ۷۲/۶، ۱۵/۴	۹،۶۴	۳	۱۳/۴، ۳۷/۳، ۲۲/۴	۱۹/۴ ، ۴/۵ ،۳

از ۱۷۵ سویه انتروکوک فکالیس مورد مطالعه درآزمون MIC، ۱۶۶ سویه (۹۵ درصد) با استفاده از روش دیسک دیفیوژن آگار و Microdilotion Broth به ونکومایسین و تیکوپلانین حساس بودند. مقاومت ۹ سویه (۵ درصد) به ونکومایسین و تیکوپلانین به روش Microdilotion Broth نیز تایید گردید.

از ۶۷ سویه انتروکوک فاسیوم مورد مطالعه، ۵۱ سویه (۷۶ درصد) با استفاده از روش دیسک دیفیوژن آگار به ونکومایسین مقاوم بودند اما مقاومت ۴۹ سویه (۷۳ درصد) به ونکومایسین توسط روش Microdilotion Broth تایید شد. هم چنین ۲ سویه (۳ درصد) که با دیسک دیفیوژن به‌عنوان سویه‌های مقاوم تعیین شدند، با استفاده از روش Microdilotion Broth به عنوان سویه‌های نیمه حساس شناسایی شدند که با شناسایی ژن *VanB* در این دو سویه مطابقت دارد. این نتایج حساسیت بالای Microdilotion Broth نسبت به روش دیسک دیفیوژن را نشان می‌دهد. از ۶۷ سویه انتروکوک فاسیوم مورد مطالعه، ۴۹ سویه (۷۳ درصد) با استفاده از روش دیسک آگار دیفیوژن به تیکوپلانین مقاوم بودند و با استفاده از روش Microdilotion Broth نیز همه ۴۹ سویه (۷۳ درصد) به تیکوپلانین مقاوم بودند. هم‌چنین حساسیت ۱۸ سویه (۲۷ درصد) به تیکوپلانین به روش Microdilotion Broth تایید گردید.

باتوجه به این‌که عدد $p \leq ۰/۰۰۱$ به‌دست آمده است، پس بین روش دیسک دیفیوژن آگار و میکرودایلوشن براث آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین و تیکوپلانین در سویه‌های انتروکوک فکالیس و انتروکوک فاسیوم ارتباط معنی‌داری برقرار است.

بحث

این تحقیق اولین بررسی مقایسه‌ای در مورد میزان شیوع عفونت با انتروکوک فاسیوم و انتروکوک فکالیس در سطح بیمارستان‌های شهر همدان بوده و نشان می‌دهد که انتروکوک فکالیس در اکثر مطالعات داخل و خارج کشور شایع‌ترین گونه انتروکوک ایزوله شده از نمونه‌های بالینی می‌باشد. در این مطالعه از ۲۸۰ سویه انتروکوک، ۱۷۵ سویه (۶۲/۵ درصد) به گونه انتروکوک فکالیس، ۶۷ سویه (۲۴ درصد) به گونه انتروکوک فاسیوم و ۳۸ سویه (۱۳/۵ درصد) به دیگر گونه‌های انتروکوک تعلق داشتند. مطالعه Ajay و همکاران و Sreeja و همکاران در هند در سال ۲۰۱۲، Brown و همکاران در انگلستان در سال ۲۰۰۸ و Fisher و Phillips در سال ۲۰۰۹، Shan و همکاران در ترکیه در سال ۲۰۱۲، Ukropina–Mihajlovic و همکارانش در صربستان در سال ۲۰۱۴ میزان شیوع سویه‌های انتروکوک فکالیس را به‌ترتیب ۵۵/۵ درصد، ۷۶ درصد، ۶۳ درصد، ۶۲ درصد، ۷۶ درصد و ۶۲/۲ درصد گزارش کردند(۴).

مطالعات داخل ایران نیز نتایج مشابهی در مورد میزان شیوع سویه‌های انتروکوک فکالیس در نقاط مختلف ارائه می‌دهند. فیض آبادی و همکاران در تهران در سال ۲۰۰۴، قلندرزاده و همکاران در بندرعباس در سال ۲۰۱۳، رفیعی طباطبایی و همکاران در تهران در سال ۲۰۱۲، محمدی و همکاران در کرمانشاه و ایلام در سال ۲۰۱۱ به ترتیب میزان شیوع سویه‌های انتروکوک فکالیس و انتروکوک فاسیوم را ۲۸ درصد و ۷۱ درصد، ۱۰/۸ درصد و ۸۵/۳ درصد، ۱۸/۵ درصد و ۷۰/۴ درصد، ۲۲/۵ درصد و ۷۷/۵ درصد گزارش کردند(۱۷-۱۴).

سویه‌های *VRE* اغلب هم زمان به کلاس‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی مقاوم می‌باشند. مقاومت در حال افزایش سطح بالا به پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین و آمینوگلیکوزیدها در سال‌های اخیر خصوصاًدر سویه‌های انتروکوک فاسیوم مقاوم به ونکومایسین اثبات شده است. سویه‌های انتروکوک دارای مقاومت دارویی چندگانه، خصوصاً انتروکوک فکالیس و انتروکوک فاسیوم از مشکلات جدی درمان بیماران مبتلا به عفونت‌های انتروکوکی به دلیل استفاده نادرست آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشند(۶). در این مطالعه ۸۵ درصد سویه‌های انتروکوک فکالیس و تمام انتروکوک

فاسیوم، دارای مقاومت دارویی چند گانه بودند، اما سویه‌های مقاوم به ونکومایسین نسبت به سویه‌های حساس به تعداد بیش‌تری از کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی مقاوم بودند.

در این مطالعه، ۲ ایزوله انتروکوک فاسیوم (۴ درصد)، مقاومت به ۱۰ از ۱۲ آنتی‌بیوتیک مورد بررسی را نشان دادند که این ۲ ایزوله مقاوم به ونکومایسین از نمونه‌های ادراری جدا شده بودند. ۱۸ سویه مقاوم به ونکومایسین (۳۵/۲ درصد)، دارای مقاومت دارویی ۸ گانه، ۱۶ سویه (۳۱/۳ درصد) دارای مقاومت دارویی ۹ گانه، ۱۲ سویه (۲۳/۵ درصد) دارای مقاومت دارویی ۷ گانه و ۳ سویه (۶ درصد) دارای مقاومت دارویی ۶ گانه بودند. مقاومت دارویی چندگانه در ۸۵ درصد سویه‌های انتروکوک فکالیس مورد مطالعه مشاهده شد. از سویه‌های انتروکوک فکالیس مقاوم به ونکومایسین، ۷ سویه (۷۷/۸ درصد) دارای مقاومت دارویی ۹ گانه و ۲ سویه (۲۲/۲ درصد) دارای مقاومت دارویی ۱۰ گانه بودند.

در مطالعه ما تمامی سویه‌های انتروکوک فکالیس و انتروکوک فاسیوم به آنتی‌بیوتیک لینه زولید حساس بودند که با مطالعات Loza و همکاران در اسپانیا در سال ۲۰۰۸، Sreeja و همکاران در هند در سال ۲۰۱۲، Mihajlović-Ukropina Mira و همکاران در اروپا در سال ۲۰۱۴، فیض آبادی و همکاران در تهران در سال ۲۰۰۸، هایلی در تهران در سال ۲۰۱۲ مطابقت دارد که ۱۰۰ درصد سویه‌های انتروکوک فکالیس و انتروکوک فاسیوم به لاین زولید حساس بودند(۲۱-۱۸).

میزان شیوع مقاومت به ونکومایسین در سویه‌های انتروکوک در مطالعه ما ۲۴ درصد بوده که با اکثر مطالعات انجام شده در داخل و خارج از کشور مطابقت دارد.

Harris و همکاران در مریلند آمریکا در سال ۲۰۰۴، Fernandes و همکاران در هند در سال ۲۰۱۳، Sader و همکاران در برزیل در سال ۲۰۰۹، Panesso و همکاران در کلمبیا، اکوادور، پرو و ونزوئلا در سال ۲۰۱۰، Zhanel و همکاران در کانادا در سال ۲۰۱۰، Mir MU و همکاران در اروپا در سال ۲۰۱۳، Kamarkar و همکاران در هند در سال ۲۰۰۴، Devi و همکاران در هند در سال ۲۰۰۲، میزان شیوع مقاومت به ونکومایسین را در سویه‌های انتروکوک به ترتیب ۲۰، ۲۳، ۲۳/۳، ۳/۱، ۶، ۳۱، ۸/۶ و ۱۰ درصد گزارش کردند(۲۸،۴-۲۲).

مطالعات مشابه انجام شده در داخل کشور توسط اسدیان و همکاران در شیراز در سال ۲۰۰۷، محمدی و همکاران در ایلام و کرمانشاه در سال ۲۰۱۱، رفیعی و همکاران در سال ۲۰۱۲، حسین زاده و همکاران در اراک درسال ۲۰۱۲، قلندرزاده دریایی و همکاران در بندرعباس در سال ۲۰۱۳، اشراقی و همکاران در تهران در سال ۲۰۰۷، میزان شیوع مقاومت به ونکومایسین را در سویه‌های انتروکوک به ترتیب ۵/۶، ۲۴/۱۰، ۱۴/۶، ۱۶/۹، ۸/۳ و ۶/۲ درصد گزارش کردند(۱۷-۱۵، ۳۱-۲۹).

در این مطالعه میزان مقاومت به آمپی‌سیلین در سویه‌های انتروکوک فکالیس ۳/۴ درصد و میزان مقاومت به آمپی‌سیلین در سویه‌های انتروکوک فاسیوم ۶۲/۷ درصد گزارش شد. در مطالعه ما نیز همانند بسیاری از مطالعات انجام شده در داخل و خارج کشور سویه‌های انتروکوک فکالیس حساسیت خوبی به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین نشان دادند که می‌توان از آن در درمان سینرژیسمی عفونت‌های انتروکوک فکالیس استفاده کرد. Eudo و همکارانش در کویت در سال ۲۰۰۳، Mengeloglu و همکارانش در ترکیه در سال ۲۰۱۱، Saifi و همکارانش در تهران در سال ۲۰۰۸، شریفی و همکارانش در تبریز در سال ۲۰۱۳، میزان مقاومت به آمپی سیلین را در سویه‌های انتروکوک قاسیوم و انتروکوک فکالیس به ترتیب ۴۶/۸ درصد در برابر ۸/۲ درصد، ۹۶ درصد در برابر ۱۳ درصد، ۱۸ درصد در برابر ۷/۵ درصد و ۹۴ درصد در برابر ¾ درصد گزارش کردند(۳۵-۳۲).

در این مطالعه نیز مشاهده شد که اکثر سویه‌های انتروکوک فاسیوم نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین (۹۲/۵ درصد)، اریترومایسین (۸۶/۶ درصد)، نورفلوکساسین (۸۳/۶ درصد) و سیپروفلوکساسین

(۸۰/۶ درصد) مقاوم بودند، بنابراین آنتی‌بیوتیک‌های معمول نمی‌توانند انتخاب‌های درمانی مناسبی در مورد سویه‌های مقاوم به ونکومایسین باشند. اما نسبت به آنتی‌بیوتیک جدید لینه زولید مقاومتی مشاهده نشد که می‌تواند انتخاب درمانی مناسبی باشد. از آنتی‌بیوتیک‌های جدید مانند لینه زولید، Tygecyclin، داپتومایسین و سینرسید می‌توان به عنوان انتخاب جایگزین در درمان عفونت‌های انتروکوکی با مقاومت دارویی چند گانه استفاده کرد(۴).

میزان مقاومت به ونکومایسین اهمیت توجه به شیوع *VRE* را در بیمارستان‌های شهر همدان جلب می‌نماید. *VRE* عامل مهم اپیدمی عفونت‌های بیمارستانی است و می‌تواند باعث افزایش ابتلا، مرگ و میر و هزینه‌ها گردد. بنابراین استفاده از روش‌هایی که قادر به شناسایی سویه‌های مقاوم و تشخیص گسترده آن‌ها باشند، در طراحی راهکارهای پیشگیری‌کننده و کنترل انتشار سویه‌های مقاوم مهم می‌باشند. از آن‌جایی‌که انتروکوک‌ها به صورت ذاتی و اکتسابی به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند، انجام تست آنتی‌بیوگرام قبل از تجویز ضروری می‌باشد. هم‌چنین مصرف صحیح آنتی‌بیوتیک‌ها علاوه بر استفاده بالینی، در صنعت کشاورزی و دامپروری نقش بسیار مهمی در کاهش مقاومت باکتریایی دارد.

سپاسگزاری

هزینه مطالعه این پایان نامه از محل اعتبارات طرح شماره ۹۱۱۲۱۵۴۴۳۷ دانشگاه علوم پزشکی همدان پرداخت شده است. بدین وسیله از معاونت آموزشی و تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی همدان تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus. Microbiology 2009; 155 (6): 1749-57.
2. Bourdon N, Fines-Guyon M, Thiolet JM, Maugat S, Coignard B, Leclercq R, et al. Changing trends in vancomycin-resistant enterococci in French hospitals, 2001–08. J Antimicrob Chemother 2011; 66(4): 713-721.
3. Sood S, Malhotra M, Das BK, Kapil A. Enterococcal infections & antimicrobial resistance.Indian J Med Res 2008; 128(2): 111-121.
4. Mihajlović-Ukropina M, Medić D, Jelesić Z, Gusman V, Milosavljević B, Radosavljević B. Prevalence of different enterococcal species isolated from blood and their susceptibility to antimicrobial drugs in Vojvodina, Serbia, 2011-2013. Afr J Microbiol Res 2014; 8(8): 819-824.
5. Emaneini M, Aligholi M, Aminshahi M. Characterization of Glycopeptides, Aminoglycosides and Macrolide resistance among Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium isolates from hospitals in Tehran. Pol J Microbiol 2008; 57(2): 173-178.
6. Daikos GL, Bamias G, Kattamis C, Zervos MJ, Chow JW, Christakis G, et al. Structures, Locations, and Transfer Frequencies of Genetic Elements Conferring High-Level Gentamicin Resistance in Enterococcus faecalis Isolates in Greece. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47(12): 3950-3953.
7. Kowalska-Krochmal B, Dworniczek E, Dolna I, Bania J, Wałecka E, Seniuk A, et al. Resistance patterns and occurrence of virulence determinants among GRE strains in southwestern Poland. Adv Med Sci 2011; 56(2): 304-310.
8. Sharifi Y, Hasani A, Ghotaslou R, Varshochi M, Hasani A, Aghazadeh M, et al. Survey of Virulence Determinants among Vancomycin Resistant Enterococcus faecalis and

Enterococcus faecium Isolated from Clinical Specimens of Hospitalized Patients of North west of Iran. Open Microbiol J 2012; 6: 34-39.

9. Fatholahzadeh B, Hashemi FB, Emaneini M, Aligholi M, Nakhjavani FA, Kazemi B. Detection of Vancomycin Resistant Enterococci (VRE) Isolated from urinary tract infections (UTI) in tehran, iran. Daru 2006; 14(3): 141-145.
10. Manero A, Blanch AR. Identification of Enterococcus spp. with a biochemical key. Appl Environ Microbiol 1999; 65(10): 4425-4430
11. Creti R, Imperi M, Bertuccini L, Fabretti F, Orefici G, Di Rosa R, et al. Survey for virulence determinants among Enterococcus faecalis isolated from different sources. J Med Microbiol 2004; 53(Pt 1): 13-20.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility tests; Approved standard-Eleventh Edition. CLSI document M02- A11. Clinical and Laboratory Standards Institute, Pennsylvania, USA, 2012. 32(1)
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. Clinical and Laboratory Standards Institute, Pennsylvania, USA, 2013. 34(1)
14. Feizabadi MM, Asadi S, Khatibi S, Etemadi G, Parvin M, Oskoui M, et al. Assesment of drug resistant pattern species about Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium of Labbafinejad hospitals and Shahid Chamran hospitals during the years. J Shahid beheshti univ Med Sci 2004; 9: 333-339 (Persian).
15. Ghalandar zadeh Z, Javad pour S, Kargar M. Frequency of vanA & vanB genes in vancomycin-resistant enterococci isolated from clinical specimens at Shahid Mohammadi hospitals Bandar Abbass.world J Microbiol 2013; 6(1): 23-33.
16. Rafiei Tabatabaei S, Karimi A, Navidinia M, Fallah F, Tavakkoly A, Rahbar M, et al. A study on prevalence of vancomycin-resistant enterococci carriers admitted in a children hospital in Iran. Annals of Biological Research 2012; (12): 5441-5445.
17. Mohammadi F, Tabaraie B, Sadeghifard N, Ghafoorian S, Maleki A, et al. Evaluation of Drug Resistance Frequency Among Entrococci faecium and E. faecalis Strains And Detection of VanA/B Genes in Vancomycin Resistance Isolated By PCR Method in Ilam And Kermanshah Hospitals. J Ilam Univ Med Sci 2011; 19(2): 1-8 (Persian).
18. 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). Enferm Infecc Microbiol Clin 2008; 26(8): 489-494.
19. Sreeja S, Babu PRS, Prathab AG. The Prevalence and the Characterization of the Enterococcus Species from Various Clinical Samples in a Tertiary Care Hospital. J Clin Diagn Res 2012; 6(9): 1486-1488.
20. Feizabadi MM, Sayadi S, Shokrzadeh L, Parvin M, Yadegarynia D. Increase in prevalence of vancomycin resistant isolates of Enterococcous faecium at Labbafinejad hospital. Iran J Clin Infect Dis 2008; 3(2): 73-77.
21. Haeili M, Ghodousi A, Nomanpour B, Omrani M, Feizabadi MM. Drug resistance patterns of bacteria isolated from patients with nosocomial pneumonia at Tehran hospitals during 2009-2011. J Infect Dev Ctries 2013; 7(4): 312-317.

22. Harris AD, Nemoy L, Johnson JA, Martin-Carnahan A, Smith DL, Standiford H, et al. Co-Carriage Rates of Vancomycin-Resistant Enterococcus and extended-spectrum beta-lactamase–Producing bacteria among a Cohort of intensive care unit patients: Implications for an Active surveillavce Program. Infect Control Hosp Epidemiol 2004; 25(2): 105-108.
23. Fernandes SC, Dhanashree B. Drug resistance & virulence determinants in clinical isolates of Enterococcus species. Indian J Med Res 2013; 137(5): 981-985.
24. Sader HS, Moet GJ, Jones RN. Antimicrobial resistance among Gram-positive bacteria isolated in Latin American hospitals. J Chemother 2009; 21: 611-620.
25. Panesso D, Reyes J, Rincon S, Diaz L, Galloway-Pena J, Zurit J, et al. Molecular epidemiology of vancomycin-resistant Enterococcus faecium: a prospective, multicenter study in South American hospitals. J Clin Microbiol 2010; 48: 1562-1569.
26. Zhanel GG, DeCorby M, Adam H, Mulvey MR, McCracken M, Lagace-Wiens P, et al. Prevalence of antimicrobial-resistant pathogens in Canadian hospitals: results of the Canadian Ward Surveillance Study (CANWARD 2008). Antimicrob. Agents Chemother 2010; 54: 4684-4693.
27. Karmarkar MG, Gershan ES, Mehta PR. Enterococcal infection with special reference to phenotypic characterization and drug resistance. Indian J Med Res 2004; 119(Suppl): 22-25.
28. Devi PS, Rao PS, Shivananda PG. Characterization, antibiotic susceptibility pattern and detection of beta-lactamases in Enterococci. Indian J Pathol Microbiol 2002; 45(1): 79-82.
29. Assadian O, Askarian M, Stadler M, Shaghaghian S. Prevalence of vancomycin-resistant enterococci colonization and its risk factors in chronic hemodialysis patients in Shiraz, Iran. BMC Infect Dis 2007; 7: 1-5.
30. Hosseinizadeh 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 Univ Med Sci 2012; 15(64): 11-16 (Persian).
31. Eshraghi SS, Talebi M, Pourshafie MR, Salari MH. The prevalence and molecular characterization of vancomycin resistant gram positive cocci isolated from patients in Tehran. Iranian Journal of Medical Microbiology 2007; 1: 9-15 (Persian).
32. Udo EE, Al-Sweih N, Phillips OA, Chugh TD. Species prevalence and antibacterial resistance of enterococci isolated in Kuwait hospitals. J Med Microbiol 2003; 52(Pt 2): 163-168.
33. Mengeloğlu FZ, Çakır D, Terzi HA. Comparison of resistance in isolates of Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium. J Clin Microbiol Infect Dis 2011; 1(1): 10-13.
34. Saifi M, Soltan Dallal MM, Pourshafie MR, Eshraghian MR, Pourmand MR, et al. High Level Resistance of Enterococcus faecium and E. faecalis Isolates from Municipal Sewage Treatment Plants to Gentamicin. Iranian J Publ Health 2008; 37(1): 103-107.
35. Sharifi Y, Hasani A, Ghotaslou R, Naghili B, Aghazadeh M, Milani M, et al. Virulence and Antimicrobial Resistance in Enterococci Isolated from Urinary Tract Infections. Adv Pharm Bull 2013; 3(1): 197-201.