

***Prevalence of Vancomycin and Teicoplanin Resistant
Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium Isolated from
Fecal Samples of Healthy Individuals and Hospital
Environmental Samples***

Maryam Ghazvinian^{1,2},
Bahman Mirzaei^{2,3},
Saba Asgharzadeh Marghmalek^{1,2},
Sanaz Amir Gholami^{1,2},
Leila Ahmadian^{1,2},
Hamid Reza Goli^{2,4}

¹ MSc Student in Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Molecular and Cell Biology Research Centre, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Assistant Professor, Department of Medical Microbiology and Virology, Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Medical Microbiology and Virology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received September 21, 2020 ; Accepted February 1, 2021)

Abstract

Background and purpose: Glycopeptide resistance genes can be transmitted to clinical strains from gram-positive environmental bacteria and the normal flora. The aim of this study was to evaluate the prevalence of vancomycin and teicoplanin-resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates in hospital environment and fecal samples of healthy individuals.

Materials and methods: Human stool and hospital environment samples were collected and inoculated on selective M-enterococcus agar medium. Then, *E. faecalis* and *E. faecium* were identified using phenotypic and molecular methods. Antibiotic susceptibility pattern of the isolates against teicoplanin and vancomycin was determined by micro-broth dilution method. Data were analyzed in SPSS applying Chi-square test.

Results: From 145 isolates, *E. faecalis* and *E. faecium* were detected in 84 (54.93%) and 61 (42.07%) isolates, respectively. One (1.19%) *E. faecalis* isolate and 4 (6.56%) *E. faecium* isolates were resistant to vancomycin, while 4 (6.56%) *E. faecium* isolates were found to be resistant to teicoplanin. The minimum inhibitory concentrations of 50 (MIC₅₀) and 90 (MIC₉₀) for vancomycin and teicoplanin in *E. faecalis* and *E. faecium* were 4 and 16 µg/ml, respectively.

Conclusion: The MIC results of vancomycin and teicoplanin showed that most of enterococci isolates studied were sensitive to these two antibiotics. Therefore, their use should be closely monitored to prevent resistance.

Keywords: *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, vancomycin, teicoplanin, healthy individuals, hospital environment

J Mazandaran Univ Med Sci 2021; 31 (195): 103-111 (Persian).

* Corresponding Author: Hamid Reza Goli - Molecular and Cell Biology Research Centre, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: goli59@gmail.com)

شیوع انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فاسیوم مقاوم به ونکومايسين و تیکوپلانتین جدا شده از نمونه های مدفوع افراد سالم و نمونه های محیطی بیمارستانی

مریم قزوینیان^{۱،۲}

بهمن میرزائی^{۲،۳}

صبا اصغرزاده مرغملک^{۱،۲}

ساناز امیرغلامی^{۱،۲}

لیلا احمدیان^{۱،۲}

حمید رضا گلی^{۲،۴}

چکیده

سابقه و هدف: ژن های مقاومت به گلیکوپپتیدها می توانند از باکتری های گرم مثبت محیطی و فلور نرمال به سویه های بالینی منتقل شوند. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی شیوع سویه های انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فاسیوم مقاوم به ونکومايسين و تیکوپلانتین در نمونه های محیطی بیمارستانی و مدفوع افراد سالم بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، نمونه های مدفوع انسانی و محیطی بیمارستانی جمع آوری شده و بر روی محیط کشت انتخابی M-enterococcus agar تلقیح شدند. سپس، با استفاده از روش های فنوتیپی و مولکولی شناسایی دو گونه انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فاسیوم انجام شد. تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله ها در مقابل تیکوپلانتین و ونکومايسين به روش میکروبراث دایلوژن انجام شد. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون کای دو مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته ها: از 145 ایزوله جدا شده، 84 ایزوله (54/93 درصد) انتروکوکوس فکالیس و 61 ایزوله (42/07 درصد) انتروکوکوس فاسیوم تشخیص داده شدند. به طور کلی، 1 (1/19 درصد) ایزوله انتروکوکوس فکالیس و 4 (6/56 درصد) ایزوله انتروکوکوس فاسیوم به ونکومايسين مقاوم بودند، در حالی که 4 (6/56 درصد) ایزوله انتروکوکوس فاسیوم نسبت به تیکوپلانتین مقاوم بودند. حداقل غلظت مهارکنندگی 50 (MIC₅₀) و 90 (MIC₉₀) برای ونکومايسين و تیکوپلانتین در انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فاسیوم، به ترتیب 4 و 16 میکروگرم/میلی لیتر بود.

استنتاج: نتایج MIC ونکومايسين و تیکوپلانتین نشان دهنده حساس بودن اکثر ایزوله های انتروکوکوس مورد مطالعه نسبت به این دو آنتی بیوتیک بود. نتایج این مطالعه پیشنهاد می کند که جهت جلوگیری از بروز مقاومت دارویی به آنتی بیوتیک های ونکومايسين و تیکوپلانتین، باید نظارت دقیقی بر مصرف این آنتی بیوتیک ها صورت گیرد.

واژه های کلیدی: انتروکوکوس فکالیس، انتروکوکوس فاسیوم، ونکومايسين، تیکوپلانتین، افراد سالم، محیط بیمارستان

مقدمه

تهاجمی در انسان شوند (1). اگر بیمار بستری شده در بیمارستان با آنتی بیوتیک های وسیع الطیف درمان شود،

انتروکوکوس ها باکتری های ساکن دستگاه گوارش می باشند که می توانند باعث ایجاد بیماری

Email: goli59@gmail.com

مؤلف مسئول: حمیدرضا گلی: مازندران، بلوار فرح آباد، میدان خزر، ساری، مازندران، ایران

1. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

2. مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

3. استادیار، گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران

4. استادیار، گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: 1399/6/31 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1399/7/6 تاریخ تصویب: 1399/11/13

نوع فنوتیپ مقاومت به ونکومايسين (VanA، VanB، VanC، VanD، VanE و VanG) شناسایی شده‌اند (12). در این میان، فنوتیپ‌های VanA و VanB بیشترین شیوع را در گونه‌های انتروکوکوس فاسیوم و انتروکوکوس فکالیس نشان داده‌اند (13). با وجودی که اکثر موارد شیوع Vancomycin Resistant Enterococci (VRE) مرتبط با ارگانيسم‌های VanA در نظر گرفته شده‌اند، شیوع VRE ناشی از VanB نیز در چندین مورد گزارش شده است که احتمالاً به دلیل انتشار کلونال سویه‌های مقاوم به دارو (13)، یا انتقال افقی ژن‌های مقاومت (14)، یا هر دو مورد می‌باشد (15).

بر اساس سطح مقاومت به ونکومايسين و حساسیت به تیکوپلانتین، VRE را می‌توان در سه فنوتیپ مورد بررسی قرار داد. فنوتیپ VanA مقاومت بالایی را به ونکومايسين و تیکوپلانتین نشان می‌دهد، در حالی که ژن کدکننده آن بر روی Tn1546 و در ساختار یک پلاسمید کنژوگه قرار گرفته است (12). این در حالی است که فنوتیپ VanB با خصوصیت مقاومت بالا به ونکومايسين و حساسیت به تیکوپلانتین (12) و فنوتیپ VanC نیز با مقاومت کم به ونکومايسين و حساسیت به تیکوپلانتین شناخته می‌شوند (16). با بررسی فنوتیپ‌های رایج Van در انتروکوکوس، می‌توان نوع مقاومت موجود را نسبت به ونکومايسين و تیکوپلانتین نیز مشخص نمود. با توجه به اینکه گلیکوپپتیدها جهت درمان عفونت‌های ناشی از انتروکوکوس‌های مقاوم به بتالاکتام‌ها و آمینوگلیکوزیدها مورد استفاده قرار می‌گیرند، اهمیت بسیار بالای مقاومت نسبت به ونکومايسين و تیکوپلانتین در بین ایزوله‌های بالینی انتروکوکوس مشخص می‌شود (12). از طرفی دیگر، حضور ژن‌های مقاومت در سویه‌هایی که از محیط‌های بیمارستانی و از مدفوع افراد سالم ایزوله می‌شوند می‌تواند زنگ خطری برای انتقال این ژن‌ها از طریق پلاسمیدها به سایر باکتری‌ها و به بیماران بستری در بیمارستان‌ها باشد (11، 17، 18). بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی شیوع سویه‌های انتروکوکوس

منجر به حذف انتروکوکوس‌ها و کاهش ضخامت لایه موکوس محافظتی معدی - روده‌ای شده و مشکلات گوارشی متعددی را ایجاد می‌کند (2). انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فاسیوم گونه‌های غالب انتروکوکوس در آزمایش‌های میکروب‌شناسی هستند، در حالی که انتروکوکوس فکالیس 80 تا 90 درصد ایزوله‌های بالینی را شامل می‌شود (3). یکی از مشکلات جدی عفونت با این باکتری‌ها، مقاومت آنتی‌بیوتیکی ذاتی آن‌ها از طریق انتقال افقی ژن‌ها می‌باشد (4، 5). در چند دهه گذشته، دومین موج شیوع انتروکوکوس فاسیوم شروع شده است، در حالی که مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالاتری را نسبت به ونکومايسين، آمپی سیلین و آمینوگلیکوزیدها، در مقایسه با انتروکوکوس فکالیس نشان داده‌اند (6).

انتروکوکوس فاسیوم و انتروکوکوس فکالیس دو گونه‌ای هستند که مقاومت به ونکومايسين در آن‌ها شایع‌تر است (4)، در حالی که بیش‌تر در مورد انتروکوکوس فکالیس شناسایی شده‌اند (7). افزایش میزان شیوع انتروکوکوس فاسیوم به ونکومايسين در سال 2002 مشاهده شد و در سال 2006 بروز این نوع از مقاومت در انتروکوکوس فاسیوم گزارش گردید (8). با وجودی که انتروکوکوس فکالیس مقاومت ذاتی و اکتسابی به انواع کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی را نشان می‌دهد، حضور و سطح مقاومت بین گونه‌ها متفاوت است (9).

از سال 1950 که ونکومايسين ساخته شد، سمیت بالای آن باعث شد که فقط برای درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم مثبت مقاوم به بتالاکتام همچون استافیلوکوکوس‌های مقاوم به متی‌سیلین استفاده می‌شد؛ اما ظهور و انتشار مقاومت به این دارو، مشکلات زیادی را در درمان عفونت‌های ناشی از کوکسی‌های گرم مثبت به وجود آورد (10). مقاومت به ونکومايسين که در بیش‌تر نقاط جهان گزارش شده است، از نظر فنوتیپی و ژنوتیپی دارای هتروژنی می‌باشد (11). تاکنون 6

فکالیس و انتروکوکوس فاسیوم مقاوم به ونکومايسين و تیکوپلانین در نمونه‌های محیطی بیمارستانی شهرستان ساری و نمونه‌های مدفوع افراد سالم بیمارستانی و غیربیمارستانی بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها

در این مطالعه توصیفی - تحلیلی، با توجه به مطالعات گذشته و با در نظر گرفتن حداکثر خطای 0/05 درصد و سطح اطمینان 95 درصد، به تعداد 145 ایزوله انتروکوکوس نیاز داشتیم که از بهمن ماه 97 تا شهریور ماه 98 جمع‌آوری شدند و متشکل از نمونه مدفوع پرسنل بیمارستانی (23 تا 66 ساله)، نمونه مدفوع داوطلبین سالم (20 تا 78 ساله) و نمونه حاصل از محیط‌های بیمارستانی (توالی، دستگیره در، جارو، شیر آب تخت، دیوار، کلید، میز، سینک، و ویلچر) شهر ساری بودند. افراد مشارکت کننده در این مطالعه حداقل 2 هفته قبل از نمونه‌گیری هیچ‌گونه آنتی‌بیوتیکی مصرف نکرده بودند و همگی آن‌ها فرم رضایت آگاهانه در مورد انجام نمونه‌گیری را تکمیل نمودند.

تعیین هویت باکتری‌ها

نمونه‌ها بر روی محیط کشت انتخابی m-Enterococcus agar (مرک، آلمان) کشت داده شدند و به مدت 48 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از رشد، کلنی‌های مشکوک را بر روی محیط کشت بلاد آگار تلقیح کرده و به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. شناسایی

فوتیپی کلنی‌های سر سوزنی سفید تا کرم، با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی انجام شد و به منظور تأیید ژنوتیپی ایزوله‌های انتروکوکوس، DNA باکتری‌ها با استفاده از روش جوشاندن استخراج شده (10) و با استفاده از پرایمر اختصاصی ژن Elongation factor Tu (*tuf*) در تست PCR مورد تعیین هویت قطعی قرار گرفتند (19). سپس، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی شناسایی کننده ژن D-alanine-D-alanine ligase encoding gene (*dal*)، گونه‌های انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فاسیوم را به روش PCR مورد شناسایی قرار دادیم (جدول شماره 1). هر دو تست PCR در حجم نهایی 25 میکرولیتر، حاوی 2/5 میلی‌مولار MgCl₂، 2/5 واحد Taq DNA polymerase، 200 میلی‌مولار dNTP، 10 پیکومول از هر پرایمر، 1 میکرولیتر از DNA الگو، و تحت شرایط دمایی ذکر شده در جدول شماره 1 انجام شدند. محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز 1/5 درصد الکتروفورز شدند و مورد ارزیابی قرار گرفتند (20).

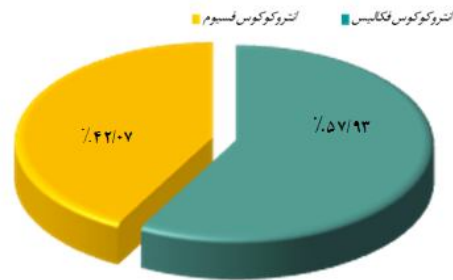
تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) گلیکوپپتیدها به روش میکرو برات دایلوژن

جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی گلیکوپپتیدها، از روش میکرو برات دایلوژن و بر اساس دستورالعمل‌های توصیه شده توسط Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) استفاده شد (21). در این روش، از میکروپلیت‌های 96 خانه‌ای، محیط کشت مولر هیتتون برات (مرک، آلمان) و آنتی‌بیوتیک‌های ونکومايسين و تیکوپلانین (سیگما، آلمان) استفاده

جدول شماره 1: توالی پرایمرهای مورد استفاده در شناسایی گونه‌های انتروکوکوس

ردیف	Amplicon Size (bp)	PCR شرایط واکنش	Sequence (5' to 3')	ژن
(19)	941	94 oc (180s) and 35 cycles of 94 oc (180s)-55 oc (30s)-72 oc (45s)-72 oc (600s)	ATCAAGTACAGTTAGTCT ACGATTCAAAGCTAACTG	<i>ddl E. faecalis</i>
(19)	550	94 oc (180s) and 35 cycles of 94 oc (180s)-55 oc (30s)-72 oc (45s)-72 oc (600s)	TAGAGACATTGAAATATGCC TCGAATGTGCTACAATC	<i>ddl E. faecium</i>
(22)	827	94 oc (180s) and 30 cycles of 94 oc (60s)-54 oc (60s)-72 oc (60s)-72 oc (600s)	CCAATGCCACAAACTCGT CCTGAACCAACAGTACGT	<i>Tuf</i>

نمونه‌گیری باشد. مطالعه حاضر در شهر ساری انجام شد و مطالعات ایرانی بررسی شده هر سه در تهران بودند.



نمودار شماره 1: فراوانی گونه‌های انتروکوکوس در کل نمونه‌های جمع‌آوری شده

در مطالعه حقی و همکاران که در زنجان که بر روی نمونه‌های بالینی انجام شد بود، میزان جداسازی ایزوله‌های انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فاسیوم، به ترتیب 69 درصد و 10 درصد بود (25). در مطالعه قلوب و همکارانش در سال 2019 که در کشور اسلوانی انجام شد، از 101 نمونه انتروکوکوس که از انسان جدا شده بودند، 71 ایزوله انتروکوکوس فکالیس و 30 ایزوله انتروکوکوس فاسیوم شناسایی شدند (18). ارتباط آماری معنی‌داری ($P=0/037$) بین شیوع دو گونه انتروکوکوس و نوع نمونه‌های مختلف وجود داشت (جدول شماره 2).

جدول شماره 2: فراوانی ایزوله‌های انتروکوکوس بر مبنای جایگاه جمع‌آوری نمونه‌ها

نمونه	انتروکوکوس فکالیس تعداد(درصد)	انتروکوکوس فاسیوم تعداد(درصد)	سطح معنی‌داری
محیط بیمارستان	(25)21	(39/8)24	0037
افراد داوطلب	(32/1)27	(32/1)23	
افراد پرسنل بیمارستان	(42/8)36	(2/3)14	

در مطالعه حاضر، بیش‌تر ایزوله‌های انتروکوکوس فکالیس (42/8 درصد) از نمونه‌های مدفوع انسانی جدا شدند، در حالی که انتروکوکوس فاسیوم به میزان بالاتری (39/3 درصد) در نمونه‌های محیطی بیمارستانی مشاهده شد. در مطالعات قبلی نشان داده شده است که انتروکوکوس فکالیس سویه غالب در نمونه‌های محیط

شد و بر اساس CLSI، تعداد باکتری در هر چاهک 100000 cfu/ml بود. همچنین، از انتروکوکوس فکالیس ATCC 29212 به عنوان سویه کنترل در این تست استفاده شد (22).

آنالیز داده‌ها

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از SPSS ورژن 18 (IBM, Armonk, NY, USA) انجام شد. ارزیابی مقایسه‌ای داده‌ها با استفاده از آزمون کای دو انجام شد. داده‌های MIC با استفاده از آمار توصیفی (میانگین، نما، MIC_{50} و MIC_{90}) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته شد.

یافته‌ها و بحث

نمونه‌های جمع‌آوری شده در این مطالعه متشکل از 50 نمونه مدفوع پرسنل از 4 بیمارستان بوعلی سینا، فاطمه الزهرا(س)، امام خمینی(ره) و زارع، 50 نمونه مدفوع داوطلبین سالم و 45 نمونه حاصل از محیط‌های بیمارستانی شهر ساری بودند. از 145 ایزوله انتروکوکوس در این مطالعه، 84 ایزوله (54/93 درصد) انتروکوکوس فکالیس و 61 ایزوله (42/07 درصد) انتروکوکوس فاسیوم بودند (نمودار شماره 1)، که تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد. نتایج مطالعه حاضر با بعضی از مطالعات هم‌راستا نبود، در حالی که در بیش‌تر مطالعات انتروکوکوس فکالیس گونه غالب بود. در مطالعه ایمان عینی و همکارانش، 64/4 درصد ایزوله‌ها و در مطالعه اربابی و همکارانش، 61 درصد ایزوله‌های شناسایی شده انتروکوکوس فکالیس بودند (24، 23). بیش‌ترین تعداد انتروکوکوس فکالیس در این مطالعه 36 ایزوله (42/8 درصد) بود که از پرسنل بیمارستان جداسازی شدند، در حالی که 28 ایزوله (39/3 درصد) انتروکوکوس فاسیوم از افراد داوطلب غیر بیمارستانی جدا شدند. تفاوت در میزان جداسازی انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فاسیوم می‌تواند به دلیل تفاوت نوع نمونه‌ها، تفاوت در روش نمونه‌گیری و حتی تفاوت جغرافیایی محل‌های

بیمارستانی می‌باشد (27,26). به‌طور کلی، 1 (1/19 درصد) ایزوله انتروکوکوس فکالیس و 4 (6/56 درصد) ایزوله انتروکوکوس فاسیوم به وانکومایسین مقاوم بودند، در حالیکه فقط 4 (6/56 درصد) ایزوله انتروکوکوس فاسیوم نسبت به تیکوپلاتین مقاوم بودند. به هر حال، 4 (4/76 درصد) و 3 (4/92 درصد) ایزوله انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فاسیوم، بترتیب دارای مقاومت حدواسط به وانکومایسین بوده و 79 (94/05 درصد) و 54 (88/52 درصد) ایزوله انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فاسیوم، بترتیب حساس به وانکومایسین بودند. همچنین، هیچ ایزوله مقاوم حد واسط نسبت به تیکوپلاتین مشاهده نشد، در حالیکه بترتیب 84 (100 درصد) و 57 (93/44 درصد) ایزوله انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فاسیوم حساس به این آنتی‌بیوتیک بودند. انتروکوک‌ها مجهز به انواع مکانیسم‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی ذاتی و اکتسابی از طریق کسب ژن‌های جدید مقاومت یا موتاسیون هستند. اکنون ترکیبی از مقاومت بالا به آمپی‌سیلین، وانکومایسین و آمینوگلیکوزیدها در بین سویه‌های انتروکوکوس فاسیوم حاصل از بیمارستان در ایالات متحده و بسیاری از کشورهای جهان از جمله ایران رایج است که تأثیر عمده‌ای بر گزینه‌های درمانی دارد. مشکلات مربوط به درمان عفونت‌های انتروکوک‌کی در اوایل دهه 1950 با مشاهده اندوکاردیت انتروکوک‌کی که تقریباً به اندازه اندوکاردیت استرپتوکوک‌کی به پنی‌سیلین مقاوم بود گزارش شد (28). تا چند دهه گذشته، انتروکوک‌ها با پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین یا وانکومایسین با یا بدون آمینوگلیکوزید درمان می‌شدند. اکنون برخی از انتروکوک‌ها در نتیجه موتاسیون در برابر این عوامل و بسیاری از عوامل دیگر (همانند مقاومت سطح بالا به استرپتومایسین یا فلوروکینولون‌ها) مقاوم شده‌اند (29).

MIC₅₀ و MIC₉₀ برای وانکومایسین و تیکوپلاتین در انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فاسیوم، به ترتیب 4 و 16 میکروگرم/میلی‌لیتر بود (جدول شماره 3)،

در حالی که میزان MIC₅₀ وانکومایسین و تیکوپلاتین در این مطالعه مرز بین مقاوم و مقاوم حد واسط بود. این در حالیست که Gupta و همکارانش مقاومت بالایی (دامنه MIC 64 تا 256 میکروگرم/میلی‌لیتر) را نسبت به وانکومایسین و تیکوپلاتین گزارش کردند (30). همچنین، Young Song و همکارانش میزان MIC₅₀ وانکومایسین و تیکوپلاتین را 128 میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه نمودند که نسبت به مطالعه حاضر میزان بالاتری را نشان داد، در حالی که در این مطالعه علاوه بر ایزوله‌های انسانی، از ایزوله‌های حیوانی نیز استفاده شده است (31). بنابراین، نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که ایزوله‌های مورد بررسی حساسیت بالاتری به وانکومایسین و تیکوپلاتین داشته‌اند. با توجه به اینکه وانکومایسین و تیکوپلاتین از پرکاربردترین آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم مثبت هستند، دوز مناسب هر دو عامل بحث برانگیز است. به‌طور گسترده‌ای شکست‌های درمانی در ایزوله‌هایی که MIC‌های بالا نشان داده‌اند گزارش شده است (32). ضروری است که داده‌های MIC به‌دست آمده مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرند تا تصمیمات مربوط به استفاده از هر دو آنتی‌بیوتیک آگاهانه صورت گیرد. سطح MIC₅₀ تیکوپلاتین و وانکومایسین در مطالعه حاضر این فرضیه را مطرح می‌کند که احتمالاً سویه‌های انتروکوکوس در این منطقه در حال سوق به سمت مقاومت بیش‌تر بوده و در نتیجه استفاده از این آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان عفونت‌های ناشی از انتروکوک‌ها چالش برانگیزتر خواهد بود، هر چند که نیاز به بررسی و مطالعات بیش‌تری دارد.

جدول شماره 3: حداقل غلظت مهار (MIC) وانکومایسین و تیکوپلاتین در ایزوله‌های انتروکوکوس مورد مطالعه

آنتی‌بیوتیک	گونه باکتری	میکروگرم/میلی‌لیتر	
		MIC ₅₀	MIC ₉₀
وانکومایسین	فکالیس	4	16
	فاسیوم	4	16
تیکوپلاتین	فکالیس	4	16
	فاسیوم	4	16

صورت گیرد تا از ایجاد مقاومت دارویی به این آنتی‌بیوتیک‌ها جلوگیری شود.

سپاسگزاری

مطالعه حاضر تحت حمایت معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران و با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.1398.416 به تصویب رسید.

از کارمندان بخش آزمایشگاه بیمارستان‌های بوعلی سینا، فاطمه الزهرا (س)، امام خمینی (ره) و زارع ساری جهت جمع‌آوری نمونه‌های مورد مطالعه قدردانی می‌شود.

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که گسترش مقاومت به گلیکوپپتیدهایمانند ونکومایسین و تیکوپلانتین، بخصوص در بین ایزوله‌های انتروکوکوسی که از نمونه‌های مدفوع افراد سالم به عنوان فلور نرمال و نمونه‌های محیطی بیمارستانی جدا شده‌اند، گزینه‌های درمانی را محدود کرده است، در حالی که خطر مضاعف انتقال ژن‌های مقاومت دارویی به سایر باکتری‌ها همانند استافیلوکوکوس‌ها را نیز به دنبال خواهد داشت. مطالعه حاضر نشان داد که با وجود حساسیت بالای ایزوله‌های انتروکوکوس نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین و تیکوپلانتین، باید احتیاط کافی در مصرف این داروها

References

1. Moellering Jr RC. Emergence of Enterococcus as a significant pathogen. Clin Infect Dis 1992; 14(6): 1173-1176.
2. Ruiz-Garbajosa P, de Regt M, Bonten M, Baquero F, Coque T, Cantón R, et al. High-density fecal Enterococcus faecium colonization in hospitalized patients is associated with the presence of the polyclonal subcluster CC17. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2012; 31(4): 519-522.
3. Robert C, Moellering J. Enterococcus species, Streptococcus bovis and Leuconostoc In: Mandell G, Bennett J, Dolin R, (eds). Principles and practice of infectious diseases 6th ed. New York: Churchill Livingstone. 2005. p. 2411-2421.
4. CDC. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC; 2019.
5. Expert rules and intrinsic resistance. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Version 3.1. September 2016. Available at: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Expert_Rules/Expert_rules_intrinsic_exceptional_V3.1.pdf. Accessed September 2, 2020.
6. Higueta A, Nelson I, Huycke MM. Enterococcal disease, epidemiology, and implications for treatment In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N, (eds). Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014.
7. Arias CA, Murray BE. The rise of the Enterococcus: beyond vancomycin resistance. Nat Rev Microbiol 2012; 10(4): 266-278.
8. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollock DA, et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. Infect Control Hosp Epidemiol 2008; 29(11): 996-1011.
9. Top J, Willems R, Bonten M. Emergence of CC17 Enterococcus faecium: from commensal

- to hospital-adapted pathogen. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2008; 52(3): 297-308.
10. Sujatha S, Praharaj I. Glycopeptide resistance in gram-positive cocci: a review. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases*. 2012; 2012: 781679.
 11. Arthur M, Courvalin P. Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37(8): 1563-1571.
 12. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13(4): 686-707.
 13. Suppola JP, Kolho E, Salmenlinna S, Tarkka E, Vuopio-Varkila J, Vaara M. vanA and vanB incorporate into an endemic ampicillin-resistant vancomycin-sensitive *Enterococcus faecium* strain: effect on interpretation of clonality. *J Clin Microbiol* 1999; 37(12): 3934-3939.
 14. Quintiliani Jr R, Courvalin P. Conjugal transfer of the vancomycin resistance determinant vanB between enterococci involves the movement of large genetic elements from chromosome to chromosome. *FEMS Microbiol Lett* 1994; 119(3): 359-363.
 15. Kawalec M, Gniadkowski M, Zaleska M, Ozorowski T, Konopka L, Hryniewicz W. Outbreak of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* of the Phenotype VanB in a Hospital in Warsaw, Poland: Probable Transmission of the Resistance Determinants into an Endemic Vancomycin-Susceptible Strain. *J Clin Microbiol* 2001; 39(5): 1781-1787.
 16. Sahn DF, Free L, Handwerker S. Inducible and constitutive expression of vanC-I-encoded resistance to vancomycin in *Enterococcus gallinarum*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39(7): 1480-1484.
 17. Kafil Hs, Asgharzadeh M. Vancomycin-resistant enterococcus faecium and enterococcus faecalis isolated from education hospital of iran. *Maedica* 2014; 9(4): 323-327.
 18. Golob M, Pate M, Kušar D, Dermota U, Avberšek J, Papić B, et al. Antimicrobial Resistance and virulence genes in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* from humans and retail red meat. *Biomed Res Int* 2019; 2019: 2815279.
 19. Ke D, Picard FJ, Martineau F, Ménard C, Roy PH, Ouellette M, et al. Development of a PCR assay for rapid detection of enterococci. *J Clin Microbiol* 1999; 37(11): 3497-3503.
 20. Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J Clin Microbiol* 1995; 33(1): 24-27.
 21. Weinstein M, Patel JB, Campeau Sh, Galas M, Eliopoulos GM, Humphries RM, et al. Performance Standards for Anti microbial Susceptibility Testing. 28thed. USA, Wayne Clinical and Laboratory Standards Institute. 2018.
 22. Sahu C, Jain V, Mishra P, Prasad KN. Clinical and laboratory standards institute versus European committee for antimicrobial susceptibility testing guidelines for interpretation of carbapenem antimicrobial susceptibility results for *Escherichia coli* in urinary tract infection (UTI). *J Lab Physicians* 2018; 10(3): 289-293.
 23. Arbabi L, Boustanshenas M, Adabi M, Fathizadeh S, Rasouli koohi S, Afshar M, et al. Isolation and Antibiotic Susceptibility Pattern among Vancomycin Resistant *Enterococci* Isolated from Clinical Samples of Different Parts of Rasoul-E-Akram

- Hospital. *J Ardabil Univ Med Sci* 2016; 15(4): 404-413.
24. 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.
25. Haghi F, Lohrasbi V, Zeighami H. High incidence of virulence determinants, aminoglycoside and vancomycin resistance in enterococci isolated from hospitalized patients in Northwest Iran. *BMC Infect Dis* 2019; 19(1): 744.
26. Oli AK, Raju S, Nagaveni S, Chandrakanth RK. Biofilm formation by multidrug resistant *Enterococcus faecalis* (MDEF) originated from clinical samples. *J Microbiol Biotech Res* 2012; 2(2): 284-288
27. Ramadhan A, Hegedus E. Biofilm formation and esp gene carriage in enterococci. *J Clin Pathol* 2005; 58(7): 685-686.
28. Geraci JE, Martin WJ. Antibiotic therapy of bacterial endocarditis: VI. Subacute enterococcal endocarditis: clinical, pathologic and therapeutic consideration of 33 cases. *Circulation* 1954; 10(2): 173-194.
29. Dunny GM, Leonard B, Hedberg PJ. Pheromone-inducible conjugation in *Enterococcus faecalis*: interbacterial and host-parasite chemical communication. *J Bacteriol* 1995; 177(4): 871-876.
30. Gupta V, Singla N, Behl P, Sahoo T, Chander J. Antimicrobial susceptibility pattern of vancomycin resistant enterococci to newer antimicrobial agents. *Indian J Med Res* 2015; 141(4): 483-486.
31. Song JY, Hwang IS, Eom JS, Cheong HJ, Bae WK, Park YH, et al. Prevalence and molecular epidemiology of vancomycin-resistant enterococci (VRE) strains isolated from animals and humans in Korea. *Korean J Intern Med* 2005; 20(1): 55-62.
32. Lowman W. Vancomycin versus teicoplanin in the treatment of serious Gram-positive infections: what do the minimum inhibitory concentration data tell us? *S Afr J Infect Dis* 2014; 29(3): 114-117.