

## بررسی شیوع و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های انتروکوکوسی از سواب واژینال

سید فضل ا. موسوی\*، مریم آقاعباسی<sup>۱</sup>، سیده مرضیه موسوی<sup>۱</sup>، بهاره شقاقی<sup>۱</sup>

(۱) مرکز تحقیقات میکروبیولوژی، انیستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۱۷

تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۱۸

## چکیده

**مقدمه:** انتروکوکوس فلور طبیعی دستگاه گوارشی و واژن در انسان است. اما به عنوان پاتوژن اکتسابی در عفونت مجرای ادراری و... از بیمارستان اهمیت پیدا کرده است. هدف از این مطالعه بررسی سواب های واژینال از نظر انتروکوکوس و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های جدا شده می باشد.

**مواد و روش ها:** مجموعاً ۱۹۸ نمونه سواب واژن از زنان با سقط جنین از شهرستان خرم آباد تهیه شد. جنس و گونه باکتری بر اساس کشت و ویژگی های بیوشیمیایی و فنوتیپی تعیین شد. تست حساسیت آنتی بیوتیکی به روش انتشار در آگار Kirby Bauer انجام شد.

**یافته های پژوهش:** از کل نمونه ها، ۱۲۸ سویه از نظر انتروکوکوس مثبت بودند، ۸۱ سویه انتروکوکوس فکالیس (۶۳/۳ درصد) و ۴۵ سویه مربوط به انتروکوکوس فیسوم (۳۵/۱ درصد) و ۲ سویه مربوط به سایر گونه ها بود (۱/۶ درصد). همه سویه ها نسبت به اگزاسیلین و ایمی پنم به ترتیب مقاوم و حساس بودند. مقاومت به آنتی بیوتیک ها شامل ونکومايسين (۳/۱ درصد)، تايكوپلانتين (۱۸/۲ درصد)، سیپروفلوکساسین (۱۱/۱ درصد)، کلرامفنیکل (۱۵/۸ درصد)، اریترومايسين (۶۳/۴ درصد)، سفوتاکسیم (۶۳/۶ درصد)، جنتامایسین (۲۹/۳ درصد) بود.

**بحث و نتیجه گیری:** در این مطالعه ۶۳/۳ درصد انتروکوکوس شناسایی شد، با توجه به این که حضور این باکتری به عنوان فلور در واژن حدود ۲۰ درصد گزارش شده است، نتایج مطالعه حاضر بیش از میزان مورد انتظار می باشد. انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فیسوم دو گونه غالب ایجادکننده عفونت می باشند. تمامی سویه ها به ایمی پنم حساس بودند. بنا بر این استفاده از آن در درمان عفونت های ناشی از انتروکوکوس پیشنهاد می شود. علاوه بر این ونکومايسين نیز می تواند به عنوان یک داروی انتخابی مهم در درمان عفونت های انتروکوکوس مقاوم به بتالاکتام ها مورد استفاده قرار گیرد. اگر چه همین درصد پایین نیز نگران کننده است.

واژه های کلیدی: عفونت های انتروکوکوس، مقاومت آنتی بیوتیکی

\*نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات میکروبیولوژی، انیستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

Email: mousavi@pasteur.ac.ir

## مقدمه

انتروکوکوس ها باکتری هایی گرم مثبت، کاتالاز منفی، فاقد اسپور، بی هوازی اختیاری هستند که در زنجیره های کوتاه، سلول های منفرد یا جفت رشد می کنند و در لوله های گوارشی انسان زندگی می کنند، هم چنین از محیط زیست و جانوران نیز می توانند جداسازی شوند. آن ها قادرند در دامنه ای از استرس ها و شرایط زیست محیطی نامساعد و حتی در شرایط فشار مختلف پایدار بمانند. بقاء در حداکثر دما (۶۵-۵ درجه سانتی گراد) و (pH ۱۰-۴/۵) غلظت نمک بالا آن ها را قادر ساخته است که در زیست بوم های مختلف توانایی تولید کلونی بیابند(۱).

انتروکوکوس گروه کوچکی از جامعه باکتریایی ساکن در روده بزرگ انسان ها هستند که بیش از یک درصد میکروفلور روده در یک فرد بالغ را تشکیل نمی دهند و تقریباً در روده همه حیوانات یافت می شوند. از بین ۲۴ گونه از انتروکوکوس که بررسی شده اند، انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فسیوم شایع ترین گونه ها می باشند(۲). اگر چه در حفره دهانی و مجرای واژینال هم می توانند کلونیزه شوند اما انتروکوکوس از این اندام ها در کمتر از ۲۰ درصد موارد شناسایی شده که برای تمایز بین عفونت واقعی و کلونیزاسیون وقتی انتروکوکوس از این نمونه ها جدا می شود، حائز اهمیت است(۳،۴). مطالعات کمی و کیفی بر روی فلور نرمال باکتریایی از ناحیه سرویکال و واژینال نشان داده است، گروه عمده باکتری های هوازی تشکیل دهنده این ناحیه باکتری های لاکتوباسیلوس، دیفتروئیدس، استافیلوکوکسی، استرپتوکوکسی و انتروکوکوس و گاهی انتروباکتریاسه و از گروه بی هوازی باسیل گرم مثبت لاکتوباسیلوس، پیتواسترپتوکوکسی و باکترئوئیدس می باشد(۵). انتروکوکوس ها فلور نرمال روده، دهان و واژن بوده و در افراد سالم غیر بیماریزا می باشند، اما آن ها به عنوان پاتوژن در بیماران بستری، به شمار می روند. انتروکوکوس ها در سال های اخیر به عنوان یک بیماریزای مهم فرصت طلب در عفونت های بیمارستانی ظهور پیدا کرده اند. آن ها علی رغم سطح پایین بیماریزایی به عنوان پاتوژن بیمارستانی محسوب می

شوند. اهمیت آن ها به دلیل بروز مقاومت در برابر بسیاری از آنتی بیوتیک ها، که شامل آنتی بیوتیک های بتالاکتام، آمینوگلیکوزیدها و مهم تر از همه گلیکوپپتیدهایی مانند ونکومایسین در حال افزایش است(۶).

انتروکوکوس ها قادر به ایجاد عفونت های داخل شکمی، اندوکاردیت و عفونت های ادراری می باشند. از بین ۲۴ گونه مختلف جنس انتروکوکوس، به طور معمول گونه های انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فسیوم در بدن انسان کلونیزه شده و عامل اصلی ایجادکننده عفونت در انسان می باشد، به طوری که ۸۰ تا ۹۰ درصد عفونت های ناشی از انتروکوکوس در انسان توسط گونه انتروکوکوس فکالیس و ۱۰ تا ۱۵ درصد از آن ها توسط انتروکوکوس فسیوم ایجاد می شود(۴،۷). انتروکوکوس فکالیس شایع ترین گونه مرتبط با عفونت های بیمارستانی می باشد. در حالی که انتروکوکوس فسیوم مقاومت به آنتی بیوتیک بیشتری دارد و در حال حاضر میزان شیوع انتروکوک فسیوم در ایزوله های بالینی رو به افزایش است(۵،۸). مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری ها، در یک بررسی بر روی عفونت های بیمارستانی نشان داد که عفونت انتروکوکوسی ۱۳/۹ درصد می باشد که در کنار اشریشیاکلی به عنوان یک عامل بیمارستانی عفونت های دستگاه ادراری می باشد. بنا بر این، گونه انتروکوک مقاوم به چند دارو، به اندازه نمونه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین(MRSA) و تولیدکننده طیف وسیعی از بتالاکتاماز(ESBL) که به عنوان پاتوژن بیمارستانی هستند، دارای اهمیت می باشد(۹).

یکی از دلایل اصلی که انتروکوکوس ها در بیمارستان ها زنده می مانند، مقاومت ذاتی آن ها به چندین آنتی بیوتیک معمول مورد استفاده در بیمارستان ها می باشد و احتمالاً عامل مهم تر توانایی آن ها در کسب مقاومت به آنتی بیوتیک های رایج موجود از طریق جهش و یا کسب ماده ژنتیکی خارجی حامل ژن مقاومت از طریق کونژوگاسیون یا روش های دیگر می باشد(۱۰). به طوری که طی دو دهه اخیر، انتروکوکوس ها به بسیاری از آنتی بیوتیک های رایج و مورد استفاده

جهت درمان عفونت های ناشی از ارگانسیم های گرم مثبت آمینوگلیکوزیدها، سفالوسپورین ها، ازترنام، پنی سیلین سنتزی، تری متاپریم سولفامتوکسازل مقاوم شده اند(۷).

سختی درمان عفونت های ایجاد شده توسط انتروکوکوس در دهه ۱۹۵۰، زمانی که سرعت پاسخ اندوکارتیسیس انتروکوکوسی به پنی سیلین به طور مشخص پایین تر از اندوکارتیسیس استرپتوکوکی بود، آشکار گردید. دلیل این امر مقاومت بیشتر انتروکوکوس ها به فعالیت باکتریوسایدی آنتی بیوتیک های بتالاکتام می باشد. از این رو جهت درمان این گروه از عفونت ها باید از خاصیت سینرژیک این گروه از آنتی بیوتیک ها (آنتی بیوتیک های مؤثر بر روی دیواره باکتری) و آنتی بیوتیک های آمینوگلیکوزیدی استفاده نمود. با توجه به طولانی بودن دوره درمان و بالا بودن اثر سمی ترکیبات آنتی بیوتیکی مورد استفاده، انتروکوکوس به یک میکروارگانسیم مشکل زا در درمان بدل شده است(۱۰،۱۱). اثر سینرژیک باکتریوسایدی بین آمینوگلیکوزیدها و آنتی بیوتیک های بتالاکتام یا گلیکوپپتیدها، در صورتی که میکروارگانسیم به هر دو گروه از آنتی بیوتیک ها، مقاومت در سطح بالا داشته باشد، بی تاثیر است. مقاومت به سطح بالای آمینوگلیکوزیدها در بین انتروکوکوس ها به شدت رو به افزایش است به طوری که بیش از ۶۱ درصد از انتروکوکوس های جدا شده از مراکز کلینیکی در نقاط مختلف دنیا چنین مقاومتی را از خود نشان داده اند(۱۰). هم چنین بیشتر جدایه های انتروکوکوس فیسومیوم، مقاومت بالایی به پنی سیلین نشان می دهند که دلیل آن میل ترکیبی پایین پروتئین های متصل شونده به پنی سیلین این گونه به پنی سیلین می باشد(۱۲،۱۳).

آنتی بیوتیک های گلیکوپپتیدی مثل تایکوپلانیل و خصوصاً ونکومایسین تنها داروی مهارکننده دیواره سلولی برای درمان عفونت های ناشی از انتروکوکوس که به تمام آنتی بیوتیک های بتالاکتام موجود مقاوم شده اند، هستند. بنا بر این توانایی انتشار مقاومت در برابر ونکومایسین به سایر باکتری های گرم مثبت، تهدید جدی است. ونکومایسین به مدت ۳۱ سال بدون

ظهور مقاومت مشخص مورد استفاده قرار می گرفت، تا این که در سال ۱۹۸۸ در انگلستان برای اولین بار انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فیسومیوم مقاوم به ونکومایسین جداسازی شدند(۶). مهم ترین نگرانی های افزایش شیوع مقاومت، از بین رفتن اثر سینرژیکی بین ونکومایسین و آمینوگلیکوزیدها، بالا رفتن فراوانی مقاومت هم زمان به چند آنتی بیوتیک در انتروکوکوس ها، انتقال ژن مقاومت به سایر باکتری های بیماری زا از جمله استاف اورئوس و استرپتوکوکوس پنومونیه بودند. با توجه به اهمیت انتروکوک، هدف از این مطالعه تعیین شیوع انتروکوک از سواب واژینال و بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آن می باشد.

### مواد و روش ها

نمونه های بالینی: ۱۹۸ نمونه سواب واژن از زنان با سقط جنین مکرر و خود به خودی از مراکز درمانی شهرستان خرم آباد، در پاییز ۱۳۸۸ تا زمستان ۱۳۸۹ در محیط ترنسپورت TSA حاوی آنتی بیوتیک نالیدیکسیک اسید و سیکلوهاگزامید جمع آوری شد. که هدف اصلی بررسی شیوع لیستریا مونوسیتوزنز در این نمونه ها بود و در کنار آن هم زمان سوبه های جنس انتروکوکوس جداسازی شد که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند.

کشت و جداسازی و شناسایی سوبه ها: نمونه های سواب واژن با هدف جداسازی اختصاصی باکتری انتروکوکوس در دو محیط بایل اسکولین آزاید آگار و بایل اسکولین آزاید براث تلقیح شدند. در این مرحله، کلونی های دارای هاله سیاه رنگ (مشکوک به انتروکوکوس) انتخاب شدند و سپس جهت حصول اطمینان از انتخاب کلونی ها، رنگ آمیزی گرم و تست های بیوشیمیایی شامل تست های جدول شماره ۱ انجام شدند. سپس برای شناسایی گونه های انتروکوکوس، واکنش تخمیر قند یک درصد از (مانیتول، رافینوز، آرابینوز، سوربیتول، سوربوز)، حرکت، هیدرولیز اسیدآمینه آرژنین برای تمامی جنس های جداسازی شده انجام گرفت.

جدول شماره ۱. تست های بیوشیمیایی تشخیص جدایه های انتروکوکوس

تست بیوشیمیایی
اکسیداز
کاتالاز
رشد در نمک ۶/۵ درصد
هیدرولیز اسکولین
هیدرولیز PYR
رشد در دمای ۱۰ درجه و ۴۵ درجه سانتی گراد

زیر میکروسکوپ به صورت کوکوس های گرم مثبت منفرد، جفت و یا زنجیره کوتاه مشاهده شدند. از بین ۱۹۸ نمونه سواب واژن جدا شده از زنان با سقط جنین ۱۲۸ نمونه از نظر تست های بیوشیمیایی تعیین کننده جنس انتروکوکوس مثبت بودند. این ارگانیزم ها بر روی محیط آگار خون دار رشد و اغلب به صورت کلنی های سفید ۲۴ ساعت پس از انکوباسیون ظاهر شدند. کلنی ها اکثراً غیر همولیتیک بوده اما با وجود این بعضی  $\alpha$  همولیتیک یا  $\beta$  همولیتیک بودند. اعضای جنس انتروکوکوس اکسیداز و کاتالاز منفی، در حضور نمک ۶/۵ درصد رشد کرده، قادر به هیدرولیز اسکولین در مجاورت بایل، قادر به هیدرولیز پیرولیدونیل -  $\beta$  - نفتیل آمید (PYR)، رشد در دو دمای مختلف ۱۰ درجه سانتی گراد و ۴۵ درجه سانتی گراد بودند (جدول شماره ۱).

پس از انجام تست های بیوشیمیایی تشخیص گونه های انتروکوکوس (جدول شماره ۲) با مطابقت نتایج با جدول مربوط به شناسایی گونه های انتروکوکوس (NCCLS) مشخص شد که از بین نمونه ها ۱۲۸ جنس انتروکوکوس، ۸۱ جدایه فکالیس (۶۳/۳ درصد) و ۴۵ جدایه مربوط به انتروکوکوس فیسیوم (۳۵/۱ درصد) و ۲ جدایه مربوط به سایر گونه ها (۱/۶ درصد) بود (شکل شماره ۱).

آنتی بیوگرام: گونه های شناسایی شده با روش دیسک دیفیوژن مورد سنجش حساسیت آنتی بیوتیکی قرار گرفتند. که در این مطالعه از ۹ دیسک آنتی بیوتیکی ضد انتروکوکوس تهیه شده از شرکت Merck آلمان استفاده شد. از گروه بتالاکتام ها آنتی بیوتیک های اگزاسیلین (OX)، سفوتاکسیم کلاولانیک اسید (CTX)، ایمپی پنم (IPM) از گروه آمینوگلیکوزیدها آنتی بیوتیک های جنتامایسین (GM)، از گروه گلیکوپپتیدها آنتی بیوتیک های ونکومایسین (V)، تایکوپلانین (TEC)، از گروه ماکرولیدها آنتی بیوتیک اریترومایسین (E)، از گروه کلرامفنیکل ها آنتی بیوتیک کلرامفنیکل (C) و از گروه فلوروکوئینولون ها آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین (CIP) بدین منظور انتخاب شدند.

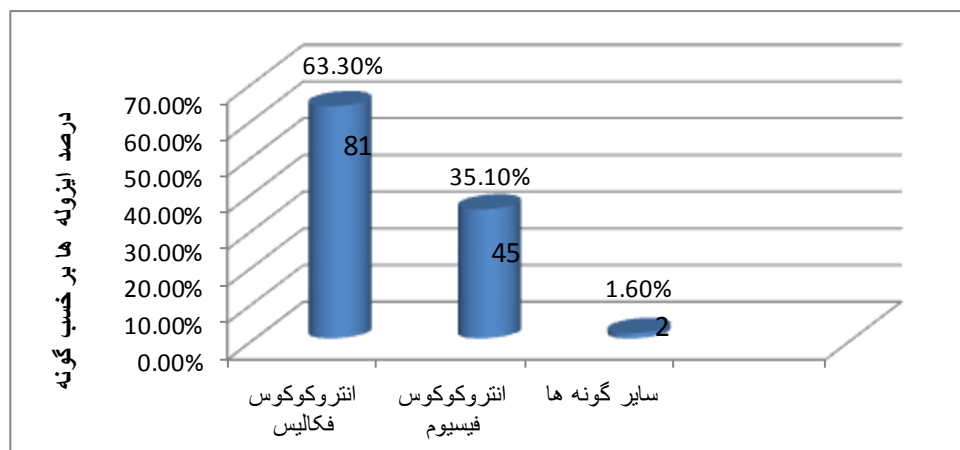
در انجام تمامی مراحل این تست استانداردهای (Clinical and Laboratory Standard Institute) CLSI به طور کامل اجرا گردید.

### یافته های پژوهش

نمونه ها و جداسازی سویه ها: از بین ۱۹۸ سواب واژنی که بر روی محیط های بایل اسکولین آرایه آگار و بایل اسکولین آرایه کشت داده شدند، ۱۲۸ جدایه (۶۵ درصد) مشکوک به انتروکوکوس با هاله سیاه رنگ انتخاب شدند که با رنگ آمیزی گرم در

جدول شماره ۲. تفاوت دو گونه انتروکوکوس بر پایه تست های بیوشیمیایی

نام گونه	حرکت	آرژنین دهیدرولاز	مانیتول	سوربوز	آرابینوز	سوربیتول	رافینوز
انتروکوکوس فکالیس	-	+	+	-	-	+	-
انتروکوکوس فیسیوم	-	+	+	-	+	V	V



شکل شماره ۱. درصد فراوانی گونه های انتروکوکوس جدا شده از نمونه های سواب واژینال

اریترومایسین (E)، کلرامفنیکل (C)، سیپروفلوکساسین (CIP)، که در (جدول شماره ۳) نشان داده شد که بیشترین سطح مقاومت سویه ها نسبت آنتی بیوتیک اگزاسیلین (۱۰۰ درصد) و بیشترین سطح حساسیت سویه ها نسبت به آنتی بیوتیک ایمی پنم (۱۰۰ درصد) نشان داده شد.

آنتی بیوگرام: از بررسی میزان مقاومت ۱۲۶ سویه انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فیسیوم به روش دیسک دیفیوژن نسبت به آنتی بیوتیک های اگزاسیلین (OX)، سفوتاکسیم کلاولانیک اسید (CTX)، ایمی پنم (IPM)، جنتامایسین (GM)، ونکومایسین (VA)، تیاکوپلانیل (TEC)،

جدول شماره ۳. نتایج حاصل از آنتی بیوگرام ۱۲۶ ایزوله انتروکوکوس فکالیس (۸۱ سویه) و انتروکوکوس فیسیوم (۴۵)

حساسیت آنتی بیوتیک	مقاوم	حساس نسبی	حساس
تعداد (درصد) سویه ها	تعداد (درصد) سویه ها	تعداد (درصد) سویه	تعداد (درصد) سویه
اگزاسیلین	۱۲۶ (۱۰۰٪)	۰٪	۰٪
سفوتاکسیم-کلاولانیک اسید	۴۶ (۳۶/۵٪)	۴۰ (۳۱/۷٪)	۴۰ (۳۱/۷٪)
ایمی پنم	۰٪	۰٪	۱۲۶ (۱۰۰٪)
جنتامایسین	۳۷ (۲۹/۳٪)	۲۰ (۱۵/۸٪)	۶۹ (۵۴/۷٪)
ونکومایسین	۴ (۳/۱٪)	۱۸ (۱۴/۲٪)	۱۰۴ (۸۲/۵٪)
تیاکوپلانیل	۲۳ (۱۸/۲٪)	۸۷ (۶۹٪)	۱۶ (۱۲/۶٪)
اریترومایسین	۸۰ (۶۳/۴٪)	۲۲ (۱۷/۴٪)	۲۴ (۱۹٪)
کلرامفنیکل	۲۰ (۱۵/۸٪)	۲ (۱/۵٪)	۱۰۴ (۸۲/۵٪)
سیپروفلوکساسین	۱۴ (۱۱/۱٪)	۴۰ (۳۱/۷٪)	۷۲ (۵۷/۱٪)

## بحث و نتیجه گیری

مطالعات انجام شده در کشورهای دیگر یک مطالعه در زمینه ارتباط تغییر pH در التهاب واژن باکتریایی با حضور انتروکوکوس فکالیس در واژن؛ در کشور بوسنی انجام شده است. با این وجود در مطالعه فوق بر روی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های شناسایی شده گزارشی صورت نگرفته است (۱۴).

مطالعات مختلفی در مورد انتروکوکوس، از جمله بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی آن در داخل و خارج کشور صورت گرفته است اما با بررسی اطلاعات به دست آمده از مطالعات پیشین تاکنون در زمینه الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی انتروکوکوس جدا شده از سواب های واژینال در ایران گزارشی در دست نیست. در

در مطالعه دیگر که در کشور کویت بر روی انتشار گونه ها و مقاومت ضد میکروبی انتروکوکوس های ایزوله شده در بیمارستان انجام شد از ۴۱۵ ایزوله جدا شده انتروکوکوس، ۹ درصد از سواب های واژینال حامل این باکتری بودند (۱۵).

در مطالعه دیگر که در سال ۲۰۰۹ توسط Ahmet Alim و همکاران بر روی ارزیابی فلور واژن زنان در سن تولیدمثل با یا بدون التهاب واژن (واژینوزیس) صورت گرفت از مجموع ۳۱۱ سواب واژینال، انتروکوکوس فکالیس از ۱۹ کشت (۶/۱ درصد) جداسازی شد (۱۶) اما در مطالعه حاضر از مجموع ۱۹۸ سواب واژینال از زنان با سقط جنین مکرر ۱۲۶ (۶۳/۳ درصد) جنس انتروکوکوس شناسایی شدند که این میزان بالای حضور انتروکوکوس در سواب واژینال غیرمعمول است و جای تامل دارد. چرا که انتروکوکوس از این ناحیه در کمتر از ۲۰ درصد موارد جداسازی می شود (۱۷) در صورتی که در این مطالعه حاضر حدود ۶۵ درصد جدایه ها انتروکوکوس بودند. از نظر گونه های مختلف ایجادکننده بیماری، انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فیسیوم دو گونه غالب ایجادکننده عفونت می باشند که به ترتیب ۸۰ تا ۹۰ درصد و ۵ تا ۱۰ درصد از عفونت های انتروکوکوسی را ایجاد می کنند (۱۸). در مطالعه ما از ۱۲۶ جنس انتروکوکوس شناخته شده ۸۱ گونه انتروکوکوس فکالیس (۶۳/۳ درصد) و ۴۵ گونه انتروکوکوس فیسیوم (۳۵/۱ درصد) بودند که این نتایج در مقایسه با مطالعات مختلف انجام شده از جمله با مطالعه Edet E و همکاران در سال ۲۰۰۳ که از ۴۱۵ سویه انتروکوکوس جداسازی شده از نمونه های کلینیکی مختلف ۸۵/۳ درصد سویه ها انتروکوکوس فکالیس، ۷/۷ درصد سویه ها انتروکوکوس فیسیوم و مابقی سایر گونه ها بودند و هم چنین مطالعه دیگر که توسط Steven Gordon و همکاران صورت گرفت ۹۰ درصد جدایه ها انتروکوکوس فکالیس و ۸ درصد انتروکوکوس فیسیوم و مابقی گونه های دیگر بودند، تفاوت داشت (۱۵، ۱۹). در این مطالعه از دسته آنتی بیوتیک های بتالاکتام مقاومت سویه های انتروکوکوس نسبت به آنتی بیوتیک های اگزاسیلین و ایمو پنم مورد بررسی قرار گرفت که

یافته های حاصل از نتایج آنتی بیوگرام نشان داد که تمامی سویه های انتروکوکوس نسبت به این آنتی بیوتیک ها به ترتیب مقاوم و حساس هستند. از آن جایی که تمامی سویه های انتروکوکوس مورد بررسی در این مطالعه به آنتی بیوتیک ایمو پنم حساس هستند استفاده از آن در درمان عفونت های ناشی از انتروکوکوس پیشنهاد می شود.

آنتی بیوتیک های گلیکوپپتیدی مثل تایکوپلانیل و خصوصاً ونکومايسين تنها داروی مهارکننده دیواره سلولی برای درمان عفونت های ناشی از انتروکوکوس که به تمام آنتی بیوتیک های بتالاکتام موجود مقاوم شده اند، هستند. نتایج حاصل از آنتی بیوگرام در این مطالعه نشان داد که ۴ جدایه انتروکوکوس (دو سویه انتروکوکوس فکالیس و دو سویه انتروکوکوس فیسیوم) یا ۳/۱۷ درصد از کل نمونه های انتروکوکوس نسبت به آنتی بیوتیک ونکومايسين مقاوم بودند. هم چنین ۲۳ سویه از جدایه ها (۱۳ سویه انتروکوکوس فکالیس و ۱۰ سویه انتروکوکوس فیسیوم) یا ۱۸/۲ درصد از کل نمونه ها به آنتی بیوتیک تایکوپلانیل مقاوم نشان دادند. در مطالعه ای که در کویت توسط Edet E. Udo و همکاران صورت گرفت ۲/۶ درصد سویه ها به ونکومايسين و ۲/۶ درصد به تایکوپلانیل مقاوم بودند (۱۵). در مطالعه Steven Gordon و همکاران از ۷/۵ درصد ایزوله دو جدایه انتروکوکوس به ونکومايسين مقاوم بودند (۱۹). که این نتیجه تا حدودی با نتایج مطالعه حاضر برای آنتی بیوتیک ونکومايسين مطابقت دارد. در مطالعه حاضر درصد پائینی از سویه های انتروکوکوس به آنتی بیوتیک ونکومايسين مقاوم بودند بنا بر این ونکومايسين می تواند به عنوان یک داروی انتخابی مهم در درمان عفونت های انتروکوکوس مقاوم به بتالاکتام ها مورد استفاده قرار گیرد. اگر چه همین درصد پائین مقاومت به ونکومايسين نگران کننده است و هشدار جدی در مورد مصرف آنتی بیوتیک ها است.

چنانچه ونکومايسين آمینوگلیکوزیدی است که به طور وسیعی همراه با یک آنتی بیوتیک ضد دیواره سلولی در درمان عفونت های جدی انتروکوکوسی به کار رفته است و در واقع آنتی بیوتیک دوم دیواره سلولی را از بین

می برد تا جنتامایسین به راحتی وارد سلول شده و اثر ضد باکتریایی خود را اعمال کند، در صورتی که ارگانیزم مقاومت بالایی را به جنتامایسین نشان دهد این اثر سینرژیسمی انجام نخواهد شد. بررسی شیوع مقاومت به جنتامایسین در آمریکا، کانادا، آمریکای لاتین، اروپا و آسیا حاکی از مقاومت ۱۴ تا ۴۰ درصد انتروکوکوس ها به جنتامایسین می باشد (۲۶).

در طی این مطالعه نتایج آنتی بیوگرام سویه های انتروکوکوس نسبت به آنتی بیوتیک جنتامایسین نشان داد که ۳۷ سویه انتروکوکوس (۲۱ سویه انتروکوکوس فکالیس و ۱۶ سویه انتروکوکوس فسیوم) یا ۲۹/۳ درصد از کل سویه های انتروکوکوس به جنتامایسین مقاوم هستند که این تعداد در مقایسه با مطالعه کتابیون برهانی و همکاران که ۹۶ درصد سویه ها مورد بررسی نسبت به جنتامایسین مقاوم بودند، دارای درصد فراوانی کمتری است (۲۹). طی سه دهه اخیر آمینوگلیکوزیدها از جمله جنتامایسین در سطح وسیع جهت درمان عفونت های مختلف در بیماران بیمارستانی و غیربیمارستانی در ایران مورد استفاده قرار می گیرد و این امر می تواند یکی از مهم ترین عوامل شیوع بالای مقاومت در جامعه باشد.

سیپروفلوکساسین از خانواده فلوروکوئینولون ها می باشد که طی سال های اخیر به دلیل مصرف بالای این آنتی بیوتیک به ویژه در درمان عفونت های ادراری، مقاومت به آن در سطح کشور بسیار بالا رفته است. میزان مقاومت به این آنتی بیوتیک در انتروکوکوس فسیوم بیشتر از انتروکوکوس فکالیس مشاهده شده است (۲۰). در مطالعه M.G. Karmarker در سال ۲۰۰۴ نتایج آنتی بیوگرام برای ۵۲ نمونه کلینیکی انتروکوکوس نشان داد که ۱۰۰ درصد انتروکوکوس فکالیس ها و ۸۵/۷۱ درصد انتروکوکوس فسیوم ها به سیپروفلوکساسین مقاوم هستند (۲۰). در مطالعه حاضر آنتی بیوگرام نشان داد که از ۱۴ سویه انتروکوکوس (۱۱/۱ درصد) مقاوم به سیپروفلوکساسین ۸ سویه انتروکوکوس فسیوم (۶/۳۴ درصد) و ۶ سویه انتروکوکوس فکالیس (۴/۸ درصد) بودند که با مطالعه کارمر و مطالعات قبلی مطابقت دارد. مقاومت به آنتی بیوتیک کلرامفنیکل از گروه مقاومت های اکتسابی

است که توسط پلاسمیدهای کوچک منتقل می شود (۲۱). در مطالعه ای که در پرتغال سال ۲۰۰۶ بر روی انتروکوکوس های جدا شده از افراد سالم انجام گرفته، ۶۴ درصد سویه های جدا شده مقاوم به کلرامفنیکل بودند. در مطالعه ما ۱۵/۸ درصد از سویه های انتروکوکوس مقاوم به کلرامفنیکل که ۱۰/۳ درصد مربوط به انتروکوکوس فکالیس و ۵/۵ درصد مربوط به انتروکوکوس فسیوم بودند (۲۲). که این نتیجه با مطالعات دیگر که میزان مقاومت به کلرامفنیکل را در گونه فکالیس بیش از فسیوم گزارش کرده اند مطابقت دارد (۲۳).

اریترومایسین از جمله آنتی بیوتیک های ماکرولیدی است که به عنوان یک آنتی بیوتیک خوراکی موثر به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرد (۲۴). از این رو مقاومت به این آنتی بیوتیک در انتروکوکوس ها به نسبت بالاست. در مطالعه انجام شده در پرتغال روی افراد سالم در سال ۲۰۰۶، مقاومت هم زمان به جنتامایسین و اریترومایسین در انتروکوکوس ها، ۹۱ درصد و در انتروکوکوس های جدا شده از فاضلاب های تهران، در انتروکوکوس فکالیس ۹۷ درصد و در انتروکوکوس فسیوم ۶۳ درصد گزارش شده است (۲۵، ۲۶). مطالعات مختلف از سایر نقاط جهان نیز حاکی از مقاومت بالا به اریترومایسین در انتروکوکوس ها است. از جمله در مطالعه کویت مقاومت به اریترومایسین ۶۳/۳ درصد گزارش شد که با مطالعه ما ۶۳/۴ درصد (۸۰ سویه) مطابقت دارد. در مطالعه ما بین ۸۰ سویه مقاوم به اریترومایسین، ۵۲ سویه انتروکوکوس فکالیس (۴۱/۲ درصد) و ۲۸ سویه انتروکوکوس فسیوم (۲۲/۲ درصد) بودند که با داده های حاصل از مطالعات کویت مطابقت دارد. آنتی بیوتیک دیگر سفوتاکسیم کلاوولانیک اسید (CTX) است که در واقع یک داروی ترکیبی است که در آن آنتی بیوتیک بتالاکتام با یک مهارکننده بتالاکتاماز باکتری مثل اسید کلاوولانیک همراه می شود. که این ترکیب کشنده باکتری نیست بلکه بتالاکتاماز را مهار می کنند تا آنتی بیوتیک را غیرفعال نکند بنا بر این اثر آن ها باعث مرگ باکتری می شود. هر چند که امروزه بتالاکتامازهایی شناخته شده اند که به این ترکیب

توجه کرد این است که در مقایسه با گزارش های موجود، فراوانی بیش از سه برابری انتروکوک ها در واژن زنان با سقط جنین مکرر است، که این سوال را مطرح می سازد آیا رابطه ای بین حضور انتروکوکوس در واژن و سقط جنین وجود دارد؟! لذا بررسی و مقایسه ژن های ویرولانسی این جدایه ها با جدایه های به دست آمده در سایر اندام ها پیشنهاد می شود و ضمناً در خصوص مقاومت آنتی بیوتیکی، بررسی حضور ژن های مقاومت و مکانیسم های ایجادکننده این مقاومت ها ضروری به نظر می رسد.

مقاوم هستند. اخیراً مکانیزم مقاومت دیگری در برابر مخلوط بتالاکتام کلاوولانیک اسید شناخته شده است که در آن یک ژن کروموزومی کدکننده بتالاکتاماز به مقدار زیاد تکثیر یافته تا مقدار بیشتری بتالاکتاماز تولید کند که به نظر می رسد بتالاکتاماز اضافی قادر است به اسید کلاوولانیک اسید متصل شود و بتالاکتاماز را قادر می سازد تا آنتی بیوتیک را غیرفعال سازد در مطالعه حاضر ۴۶ سویه انتروکوکوس (۳۲ سویه انتروکوکوس فکالیس و ۱۴ سویه انتروکوکوس فیسوم) یا ۳۶/۶ درصد از کل نمونه ها به CTX مقاوم بودند. یکی از نکات مهم که از نتایج به دست آمده حاضر باید بدان

### References

1. Klein G, Pack A, Bonaparte C, Reuter G. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol* 1998;41:103-25.
2. Merz WG, Hay RJ, Topley W, Wilson G. Topley and wilsons microbiology and microbial infections medical micology. Hodder Arnold; 2005. P.340-5.
3. Hancock LE, Gilmore MS, Fischetti V, Novick R, Ferretti J, Portnoy D, et al. Pathogenicity of enterococci. 2th ed. Gram-positive pathogens; 2006. p.299-311.
4. Giraffa G. Enterococci from foods. *FEMS Microbiol Rev* 2002;26:163-71.
5. Clark N, Cooksey R, Hill B, Swenson J, Tenover F. Characterization of glycopeptide-resistant enterococci from US hospitals. *Antimicrobial Age Chemother* 1993;37:2311-7.
6. Silvalopes M, Ribeiro T, Abrantes M, Figueiredomarcos JJ, Tenreiro R, Crespo MTB. Antimicrobial resistance profiles of dairy and clinical isolates and type strains of enterococci. *Int J Food Microbiol* 2005;103:191-8.
7. Murray BE, Weinstock GM. Enterococci new aspects of an old organism. *Proce Asso American Physic* 1999;111:328-34.
8. Chaisilwattana P, Monif GR. Invitro ability of the group B streptococci to inhibit gram-positive and gram-variable constituents of the bacterial flora of the female genital tract. *Infect Dis Obst Gynecol* 1995;3:91-7.
9. Sreeja S, Sreenivasa Babu P, Prathab A. The prevalence and the characterization of the enterococcus species from various clinical samples in a tertiary care hospital. *J Clin Diag Res* 2012;6:1486.
10. Murray BE. Vancomycin-resistant enterococci. *American J Med* 1997;102:284-93.
11. Huycke MM, Sahn DF, Gilmore MS. Multiple-drug resistant enterococci the nature of the problem and an agenda for the future. *Emerg Infect Dis* 1998;4:239.
12. Uttley AC, Collins C, Naidoo J, George R. Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet* 1988;331:57-8.
13. Lukasova J, Sustackova A. Enterococci and antibiotic resistance. *Acta Vet Brn* 2003;72:315.
14. Jahic M, Nurkic M, Fatusic Z. Association of the pH change of vaginal environment in bacterial vaginosis with presence of *Enterococcus faecalis* in vagina. *Med Arh* 2006;60:364-8.
15. Udo EE, Alsweih N, Phillips OA, Chugh TD. Species prevalence and antibacterial resistance of enterococci isolated in Kuwait hospitals. *J Med Microbiol* 2003;52:163-8.
16. Alim A, Cetin A, Yıldız C. Evaluation of vaginal flora and susceptibility test of microorganisms in reproductive-age women with or without vaginitis in primary care settings. *Cumhur Med J* 2009;31:116-21.
17. Klare I, Werner G, Witte W. Enterococci habitats, infections, virulence



- factors, resistances to antibiotics. *Trans Resis Det* 2001;8:22-108.
18. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Rev* 2000;13:686-707.
19. Gordon S, Swenson JM, Hill BC, Pigott NE, Facklam RR, Cooksey RC, et al. Antimicrobial susceptibility patterns of common and unusual species of enterococci causing infections in the United States. Enterococcal Study Group. *J Clin Microbiol* 1992 Sep;30:2373-8.
20. Noor AF, Shams F, Munshi SK, Hassan M, Noor R. Prevalence and antibiogram profile of uropathogens isolated from hospital and community patients with urinary tract infections in Dhaka City. *J Bangladesh Acad Sci* 2013;37:57-63.
21. Weinstein MP. Comparative evaluation of penicillin, ampicillin, and imipenem mics and susceptibility breakpoints for vancomycin-susceptible and vancomycin-resistant enterococcus faecalis and enterococcus faecium. *J Clin Microbiol* 2001;39:2729-31.
22. Comroe Jr J. Pay dirt the story of streptomycin. Part I. From Waksman to Waksman. *American Rev Respirator Dis* 1978;117:773.
23. Saifi M, Dallal MS, Pourshafie M, Eshraghian M, Pourmand M, Salari M, et al. High level resistance of *Enterococcus faecium* and *E. faecalis* isolates from municipal sewage treatment plants to gentamicin. *Iranian J Public Health* 2008;37:103-7.
24. Flores RM. Vancomycin-resistant Enterococci approach to treatment and control. *J Moffi Cancer Cent* 1996;3:66-72.
25. Karmarkar M, Gershom ES, Mehta P. Enterococcal infections with special reference to phenotypic characterization and drug resistance. *Indian J MedRes* 2004;119:22-5.
26. Sahm DF, Koburov GT. In vitro activities of quinolones against enterococci resistant to penicillin-aminoglycoside synergy. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:71-7.
27. Novais C, Coque T, Sousa J, Peixe L. Antimicrobial resistance among faecal enterococci from healthy individuals in Portugal. *Clin Microbiol Infect* 2006;12:1131-4.
28. Facklam R, Collins M. Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. *J Clin Microbiol* 1989;27:731-4.
29. Saifi M, Dallal MS, Pourshafie M, Eshraghian M, Pourmand M, Salari M, et al. High level resistance of enterococcus faecium and e. faecalis isolates from municipal sewage treatment plants to gentamicin. *Iranian J Public Health* 2008;37:33-38.

## Evaluation of Prevalence and Antibiotic Resistance in Enterococci Samples Isolated from Vaginal Swabs

Mousavi F<sup>1\*</sup>, Aghabassi M<sup>1</sup>, Mousavi M<sup>1</sup>, Shaghghi B<sup>1</sup>

### Abstract

**Introduction:** Enterococci are normal flora in the human intestinal tract and vagina and are growing its importance as hospital-acquired pathogen. *E. faecalis* and *E. faecium* are two predominant species causing infection. The aim of this study was to investigate on prevalence of enterococcus and its antibiotic resistance in isolated samples from vagina.

**Material & methods:** Isolates samples were obtained from women with spontaneous abortions (n=198) and were identified to the genus and species level by cultural characteristics and biochemical tests. The susceptibility of the isolates samples to antibiotic drugs was determined by the Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol.

**Findings:** From all of the specimens, 128 cases confirmed as *Enterococcus*. (63.2%)

and (35.1%) strains were *Enterococcus faecalis* and *E. faecium*, respectively. All of the isolates samples were susceptible to imipenem and resistant to oxacilin. Resistance of the isolates samples to antibiotics were as follows: vancomycin (3.1%), teicoplanin (18.2%), ciprofloxacin (11.1%), chloramphenicol (15/8%), erythromycin (63.4%), Cefotaxime (36.6%), gentamicine (29.3%).

**Discussion & Conclusion:** In examined cases from this research, enterococcus was detected in 63.2% of cases. Given that the presence of these bacteria in the vaginal flora of 20% as reported, the results of this study are more than expected. Since all samples were sensitive to imipenem, it is recommended that it be used for treatment.

**Keywords:** Enterococci, Vaginal samples, Antibiotic resistance.

1. Microbiology Research Center, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.

\*Corresponding Author Email: mousavi@pasteur.ac.ir