جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۱ شماره ۳ پاییز ۱۳۸۶، صفحات ۹-۱۵

فراوانی و خصوصیات مولکولی کوکس های گرم مثبت هوازی مقاوم به ونکومایسین جدا شده از نمونه های بالینی در شهرتهران

سید سعید اشراقی*[۱]، ملیحه طالبی[۱،۲]، محمدرضا پورشفیع[۲]، محمدحسین سالاری[۱]

۱) بخش باکتری شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲) بخش باکتری شناسی، انستیتو پاستور ایران
نویسنده رابط: سید سعید اشراقی، دانشیار گروه پاتوبیولوژی، بخش باکتری شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
تلفن : ۸۸۹۷۳۶۶۰ همراه: ۰۹۱۲۶۳۶۳۱۳۴ eshraghs@sina.tums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۸۶/۷/۱۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۶/۹/۲۲

چکیده:

زمینه و اهداف: باکتری های گرم مثبت مخصوصا کوکس های گرم مثبت مانند استافیلوکوک های کواگولاز منفی، *استافیلوکوکوس اورئوس* و انتروکوک، پاتوژن های بسیار مهمی در محیط بیمارستان می باشند. اما با پیدایش مقاومت نسبت به ونکومایسین در انتروکوک و ظهور استافیلوکوک های مقاوم به متی سیلین با حساسیت کاهش یافته نسبت به ونکومایسین، مشکلات درمانی این باکتری ها نیز بیشتر شده است. لذا این مطالعه جهت تعیین فراوانی سویه های کوکس های گرم مثبت مقاوم به ونکومایسین، تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی و بررسی ژن های مقاومت در این باکتری ها انجام شده است.

روش بررسی: در این مطالعه تعداد ۱۰۳۰ ایزوله کوکسی گرم مثبت از بیمارستان های بزرگ تهران، همچنین نمونه های بیماران سرپایی از چندین آزمایشگاه بزرگ جمع آوری شدند. تعیین هویت نمونه ها با استفاده از آزمایش های بیوشیمیایی و تایید آن توسط PCR انجام شده و تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن و تعیین حداقل دوز مهار کننده آنتی بیوتیکی با استفاده از آزمون E-test انجام گرفت. در مرحله بعد وجود ژن های مقاومت *vanA* و *vanB* مورد مطالعه قرار گرفته و ژن *vanS* و الگوی هضم آنزیمی از نظر حضور ترانسپوزون Tn*1546* مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته ها: در بین ایزوله های کوکس های گرم مثبت جدا شده، هیچ نمونه استافیلوکوک و استرپتوکوک مقاوم به ونکومایسین جدا نشد. تمام ایزوله های مقاوم به ونکومایسین جدا شده از جنس انتروکوک بودند. اکثریت ایزوله های جدا شده (٪۹۶) *E. faecium* بوده و تمامی ایزوله ها حامل ژن *vanA* بودند. تمامی ایزوله ها از نظر وجود ژن *vanS* مثبت بوده و دارای الگوی هضم آنزیمی مشابه با سویه کنترل بودند.

نتیجه گیری: مطابق با نتایج این مطالعه مقاومت به ونکومایسین منحصر به سویه های انتروکوک بوده ولی با توجه به مقاومت بالای مشاهده شده در این سویه ها و قابلیت انتقال این ژنها در این سویه ها احتمال گسترش بیشتر این ژن های مقاومت در بین سویه ها و گونه های دیگر کوکس های گرم مثبت وجود دارد.

کلید واژه ها: انتروکوک های مقاوم به ونکومایسین، کوکسی گرم مثبت هوازی، خصوصیات مولکولی، نمونه های بالینی

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه:

امروزه مقاومت آنتی بیوتیکی در نزد پزشکان از اهمیت قابل توجهی برخوردار می باشد. باکتری های مقاوم مخصوصا استافیلوکوک، انتروکوک، *کلبسیلا پنومونیه* و سودوموناس در مراکز بهداشتی ساکن می باشند و مقاومت بالای آنتی بیوتیکی در آنها، در خیلی از مواقع منجر به شکست درمان شده، در بعضی از بیماران دارای عواقب خطرناکی می باشد (۱). انتروکوک های مقاوم به ونکومایسین و استافیلوکوک های مقاوم به متی سیلین از عوامل مهم ایجاد کننده عفونت های بیمارستانی می باشند (۲،۳). انتروکوک ها دارای قابلیت بالایی در بقای طولانی مدت در محیط بیمارستان می باشند، زیرا دارای مقاومت ذاتی نسبت به اکثر آنتی بیوتیک های معمول بوده و همچنین دارای توانایی بالایی برای کسب مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های رایج می باشند (۴). آنتی بیوتیک های گلیکوپپتیدی در درمان عفونت های جدی ناشی از باکتری های گرم مثبت موثر می باشند. ونکومایسین و تیکوپلانین مهمترین اعضای خانواده آنتی بیوتیک های گلیکوپپتیدی می باشند. این آنتی بیوتیک ها علیه عفونت های ناشی از استافیلوکوک، انتروکوک، استرپتوکوک و کلستریدیوم استفاده می شوند (۵). مقاومت به این آنتی بیوتیک برای اولین بار در سال ۱۹۸۷ در انتروکوک و در سال ۲۰۰۲ در *استافیلوکوکوس اورئوس* گزارش شد (۶،۷). شش نوع مقاومت بر اساس خصوصیات فنوتیپیک و ژنوتیپیک *vanA, B,C,D,E,G* شناسایی شده است (۸). ژن *vanA* بیشتر در *Enterococcus faecium* و *Enterococcus faecalis* دیده شده است (۴) و تنها ژن مقاومت به ونکومایسین می باشد که در *استافیلوکوکوس اورئوس* گزارش شده است (۷). این ژن بر روی ترانسپوزون *Tn1546* قرار داشته و دارای قسمت های حفظ شده *vanRSHAX* می باشد. این ترانسپوزون باعث انتقال ژن های مقاومت به ونکومایسین از یک سویه به سویه دیگر و حتی بین گونه ها و جنس های مختلف می شود (۹). انتروکوک های مقاوم به ونکومایسین نه تنها ایجاد کننده عفونت های مهم می باشند بلکه از این نظر که ژن های مقاومت به ونکومایسین را به باکتری هایی با بیماریزای بالاتر مانند استافیلوکوک های مقاوم به متی سیلین منتقل می کنند حائز اهمیت می باشند (۱۰).

از آنجایی که شناسایی گونه های مقاوم و مقاومت آنتی بیوتیکی آنها و مطالعه انتشار این گونه ها برای تعیین اپیدمیولوژی و کنترل عفونت های ناشی از این باکتری ها مهم می باشد، لذا این مطالعه جهت بررسی فراوانی سویه های کوکس های گرم مثبت مقاوم به ونکومایسین جدا شده از نمونه های بیماران در شهر تهران و تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی و ژن های مقاومت در آنها انجام شده است.

مواد و روش ها:

نمونه گیری و شناسایی گونه ها:

نمونه های کوکس های گرم مثبت از بیمارستان های بزرگ تهران، همچنین نمونه های بیماران سرپایی از چندین آزمایشگاه بزرگ تهران در طی سال ۱۳۸۵ جمع آوری شدند. درکل تعداد ۱۰۳۰ ایزوله کوکسی گرم مثبت شامل تعداد ۴۸۰ استافیلوکوک کوآگولاز مثبت و کوآگولاز منفی، ۱۰۰ ایزوله استرپتوکوک و۴۵۰ ایزوله انتروکوک به دست آمد. به منظور تایید کلنی های مشکوک به استافیلوکوک، این باکتری ها بر اساس مجموعه ای از واکنش های بیوشیمیایی شامل آزمون کاتالاز، آزمون کوآگولاز، هیدرولیز اوره، هیدرولیز آرژینین، آزمایشVP و هیدرولیز مانیتول مطابق با جداول استاندارد تعیین هویت شدند. گونه های استرپتوکوک و انتروکوک با استفاده از آزمایش های کاتالاز، رشد در حضور NaCl6.5%،PYR(L-pyrolidonyl-β-naphtylamidase) قابلیت رشد در دماهای $45^{\circ C}$ و $10^{\circ C}$، آزمایش حرکت، آزمایش تولید پیگمان، هیدرولیز آرژینین، احیای تلوریت، هیدرولیز قندهای آرابینوز، مانیتول، سوربیتول، لاکتوز، سوربوز، هیدرولیز هیپورات مورد بررسی قرار گرفتند (۱۱).

تعیین حساسیت دارویی به روش Disk diffusion:

در این مطالعه ایزوله های جدا شده با استفاده از روش دیسک دیفیوژن کربی- باوئر و استفاده از محیط کشت مولر هینتون و سوسپانسیون میکروبی نیم مک فارلند از نظر حساسیت دارویی مورد آزمایش قرار گرفتند. بعد از انکوباسیون به مدت ۲۴- ۱۸ ساعت، قطر هاله عدم رشد اندازه گرفته شد و بر اساس استانداردهای CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) گزارش گردیدند (۱۲). دیسک های مورد استفاده در این تحقیق از دو شرکت BioRad (USA) و Mast (UK) تهیه گردیدند. دیسک های مورد نظر شامل دیسک های ونکومایسین، تیکوپلانین، سیپروفلوکساسین، کلرامفنیکل، آمپی سیلین، جنتامایسین، اریترومایسین، لینزولید، سینرسید (دالفوپریستین- کینوپریستین) و تتراسیکلین بودند.

تعیین حداقل غلظت مهار کننده با استفاده از روش E-test:

بعد از تعیین حساسیت ضد میکروبی باکتری ها با استفاده از روش دیسک دیفیوژن در مورد آنتی بیوتیک ونکومایسین حداقل غلظت مهار کننده، با استفاده از روش E-test تهیه شده از شرکت

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

(AB Biodisk, Solna, Sweden) با روش توصیه شده توسط شرکت سازنده تعیین شد. به این ترتیب که با آماده سازی سوسپانسیون باکتری مطابق با کدورت ۰/۵ مک‌فارلند باکتری توسط سواب به محیط مولر هینتون تلقیح شده و بعد از گذاشتن نوار آنتی بیوتیک نتایج بعد از مدت ۲۴-۱۸ بررسی شد. نتایج مطابق با استاندارد CLSI تفسیر شد (۱۳).

استخراج DNA و PCR:

استخراج DNA از باکتری ها با استفاده از کیت مخصوص استخراج DNA Qiagen DNeasy kit (Germany) بر اساس پروتکل موجود در کیت انجام گرفت. در مرحله بعد گونه های مقاوم به ونکومایسین با استفاده از پرایمرهای اختصاصی گونه و پرایمرهای ویژه ژن های مقاومت به ونکومایسین *vanA, vanB* مطابق با روش ذکر شده در مطالعات گذشته تایید شدند (۱۴). در مرحله بعد جهت تعیین حضور ترانسپوزون Tn*1546* از پرایمرهای *vanS1* 5'-GCTGGAAGCTCTACCCTAAA و *vanS2* 5'-AACGACTATTCCAAACTAGAA ویژه *vanS* ، یکی از ژن های حفظ شده موجود بر روی ترانسپوزون استفاده شد (۱۵). سپس جهت تایید ژن *vanS* از آنزیم محدودکننده *Hpa*I (Roche) ، استفاده شد. در تمام مراحل از سویه های *E. faecium* BM4147 و *E. faecalis* V583 (تهیه شده از انستیتو پاستور پاریس) به عنوان سویه های کنترل استفاده شد.

یافته ها:

در این مطالعه در طی سال ۱۳۸۵، تعداد ۴۸۰ ایزوله استافیلوکوک و ۱۰۰ ایزوله استرپتوکوک از بیمارستان ها و آزمایشگاه های تشخیص طبی جدا شدند (جدول ۱). از بین ایزوله های انتروکوک در کل ۴۵۰ ایزوله از نمونه های مختلف ادرار، خون، زخم، مایعات استریل بدنی، آبسه، ترشحات ریوی از بیمارستان های مختلف و آزمایشگاهها جدا شدند (جدول۱). از میان ایزوله های کوکسی های گرم مثبت در بین گونه های استافیلوکوک های کواگولاز مثبت و منفی و ایزوله های مختلف استرپتوکوک هیچ سویه مقاوم یا دارای حساسیت کاهش یافته نسبت به ونکومایسین مشاهده نشد. در بین انتروکوک های مورد مطالعه تعداد ۲۵ ایزوله (۵/۶٪) مقاوم به ونکوماسین جدا گردید.

ایزوله های مقاوم به ونکومایسین جدا شده با استفاده از آزمایش های بیوشیمیایی تعیین گونه شدند. نتایج تعیین گونه نشان داد که تعداد (۹۶٪)۲۴ ایزوله متعلق به *E. faecium* و ۱ ایزوله متعلق به *E. faecalis* بودند. در این بررسی نتایج تعیین گونه حاصل از انجام واکنش های بیوشیمیایی توسط آزمایش PCR با استفاده از پرایمرهای ویژه گونه *انتروکوکوس فکالیس* و *انتروکوکوس فسیوم* مورد آزمایش قرار گرفت و مشخص شد که نتایج حاصل از آزمایشات بیوشیمیایی و PCR صد در صد بر هم منطبق می باشند.

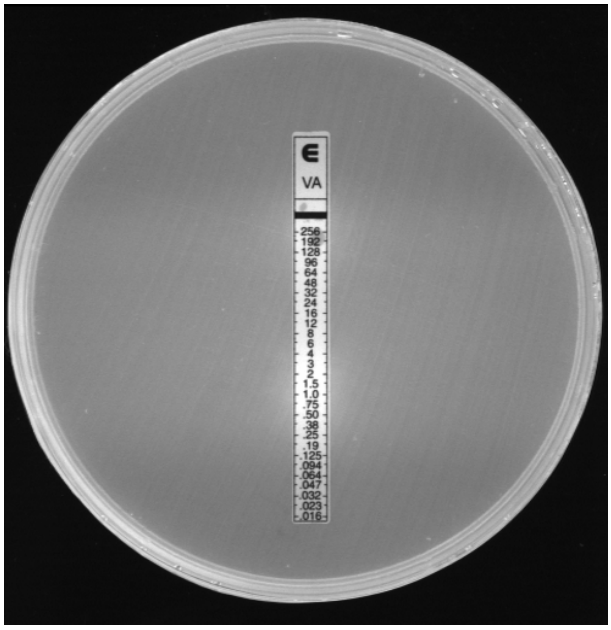
از نظر مقاومت آنتی بیوتیکی در بین آنتی بیوتیک های مورد آزمایش کمترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های سینرسید (دالفوپریستین-کینوپریستین) در یک مورد گونه *انتروکوکوس فکالیس* (۴٪) (دارای مقاومت ذاتی نسبت به این آنتی بیوتیک) و کلرامفنیکل در دو مورد (۸٪) و همینطور نسبت به تتراسیکلین مقاومت در ۹ مورد (۳۶٪) مشاهده شد و بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های جنتامایسین در۲۴ مورد (۹۶٪)، سیپروفلوکساسین در ۲۲ مورد(۸۸٪) ، اریترومایسین در۲۲ مورد (۸۸٪) و آمپی سیلین در۲۴ مورد (۹۶٪) مشاهده شد. آزمایشات تعیین MIC ونکومایسین در مورد تمام سویه های مقاوم به ونکومایسین حداقل دوز مهارکننده ۲۵۶ µg/ml را مشخص کرد (شکل ۱).

در این مطالعه بررسی حضور ژن‌های مقاومت *vanA*، *vanB* و *vans* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی بر روی تمامی ایزوله های جدا شده انجام گرفت و نتایج نشان داد که تمام ایزوله ها از نظر ژن *vanA* و *vanS* مثبت بوده و هیچکدام از سویه ها حامل ژن *vanB* نبودند. تایید وجود ژن *vanS* با استفاده از الگوی هضم آنزیمی *Hpa*I مورد آزمایش قرار گرفت. ژن *vanS* دارای اندازه ۱۱۰۰ جفت باز بوده و الگوی هضم آنزیمی با دو قطعه ۴۰۰ و ۷۰۰ جفت باز مورد انتظاربود، که این قطعات مشابه با سویه کنترل BM4147 مشاهده شد (شکل ۲).

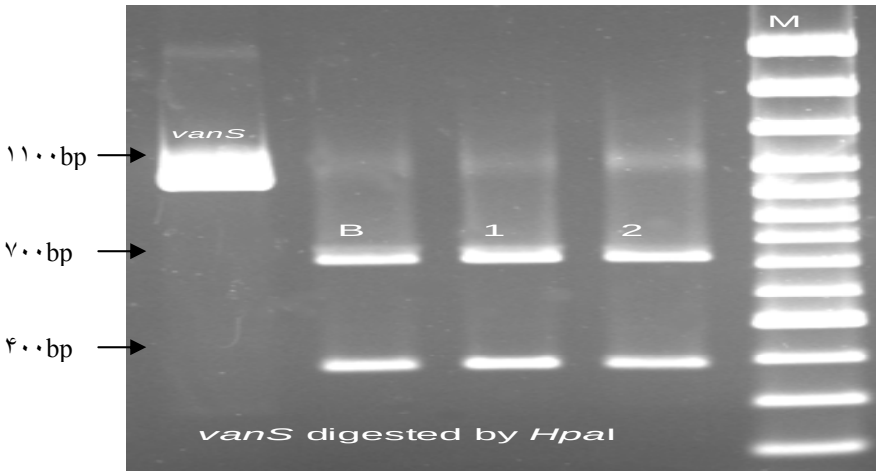
جدول ۱: توزیع فراوانی نمونه های کوکسی های گرم مثبت جدا شده از نمونه های بالینی

نمونه / نوع باکتری	تعداد (٪) استافیلوکوکهای جدا شده از نمونه های بالینی					
	ادرار	خون	زخم	مایعات استریل	آبسه	ترشحات ریوی
استافیلوکوک	۷۹ (۱۶/۵)	۳۰ (۶/۳)	۱۷۴ (۳۶/۲)	۵۷ (۱۱/۸)	۷۰ (۱۴/۶)	۷۰ (۱۴/۶)
استرپتوکوک	۶۶ (۶۶)	۲ (۲)	۲ (۲)	۴ (۴)	۸ (۸)	۱۸ (۱۸)
انتروکوک	۳۸۱ (۸۴/۷)	۲۴ (۴/۷)	۲۴ (۵/۴)	۱۰ (۲/۲)	۵ (۱)	۹ (۲)

شکل ۱ : حداقل غلظت مهار کننده(μg/ml ۲۵۶) ونکومایسین در سویه انتروکوک مقاوم به ونکومایسین



شکل ۲ : تکثیر ژن *vanS* و الگوی هضم آنزیمی آن.



M مارکر bp ۱۰۰ ، شماره های ۱،۲الگوی هضم آنزیمی دو نمونه مثبت، B الگوی هضم آنزیمی سویه استاندارد BM4147 ، *vanS* محصول PCR حاصل تکثیر ژن *vanS* سویه کنترل.

بحث:

امروزه استفاده گسترده از آنتی بیوتیک ها با افزایش روز افزون مقاومت آنتی بیوتیکی همراه شده است. آنتی بیوتیک ها در درمان عفونت های انسانی، دامپزشکی و به عنوان محرک رشد در خوراک دام استفاده می شوند. فاکتورهای مقاومت اغلب با عناصر ژنتیکی متحرک مانند ترانسپوزون یا پلاسمیدهای کونژوگاتیو همراه می باشند که انتقال ژن های مقاومت را به باکتری های دیگر از طریق انتقال افقی ژن ها تسهیل می کنند (۱۰).

در ایران نیز انتشار مقاومت آنتی بیوتیکی در بین باکتری های بیماریزا، به عنوان یک چالش مهم برای جامعه پزشکی مطرح شده است. در مطالعات قبلی نشان داده شده که کوکس های گرم مثبت مانند استافیلوکوک های کوآگولاز منفی، *استافیلوکوکوس اورئوس* و انتروکوک از جمله عوامل مهم ایجاد کننده عفونت ها در بیمارستان می باشند. همچنین ونکومایسین از جمله آنتی بیوتیک هایی می باشد که به فراوانی در محیط بیمارستان، مخصوصا در مورد استافیلوکوک های مقاوم به متی سیلین استفاده می شود و با وجود اینکه تاکنون تعداد معدودی از موارد *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به ونکومایسین گزارش شده است احتمال حضور بیشتر آن در آینده نزدیک بسیار زیاد است (۱۶).

در نقاط مختلف جهان مطالعاتی در مورد شیوع استافیلوکوک های مقاوم به ونکومایسین انجام شده است. در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس* تنها تعداد معدودی از سویه های مقاوم به ونکومایسین گزارش شده است، در مورد سویه های استافیلوکوک های کوآگولاز منفی نیز سویه های دارای مقاومت به ونکومایسین گزارش شده است، اما این سویه ها با ژن های مقاومت همراه نبوده اند (۸).

در این میان گسترش انتروکوک های مقاوم به ونکومایسین از اهمیت به سزایی برخوردار می باشد. زیرا گزارش هایی از انتقال ژن *vanA* از یک سویه *E. faecalis* به استافیلوکوکوس وجود دارد. بنابراین انتروکوک می تواند به عنوان مخزن ژن های متحرک عمل کرده و قدم بعدی در جهان پیدایش و گسترش استافیلوکوک های مقاوم به ونکومایسین باشد (۱۷).

در ایران نیز اگرچه گزارشی مبنی بر جداسازی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* حامل ژن مقاومت به ونکومایسین وجود ندارد، اما گزارشاتی از جداسازی سویه های انتروکوک مقاوم به ونکومایسین VRE وجود دارد (۱۹،۱۸). در این مطالعه نیز در مورد سویه های استافیلوکوک و استرپتوکوک هیچگونه مقاومتی نسبت به ونکومایسین مشاهده نشد. اما تعداد ۲۵ ایزوله (۵/۶٪) انتروکوک مقاوم به ونکومایسین گزارش شد. در مطالعه قبلی که توسط فیض آبادی و همکاران در سال ۲۰۰۳ انجام شده بود این رقم در بین تمام گونه های انتروکوک مورد مطالعه ۲٪ گزارش شد، که نتایج حاصل در این مطالعه نشان دهنده افزایش ۳٪ در شیوع سویه های انتروکوک مقاوم به ونکومایسین است. از نظر شیوع ژن های مقاومت به ونکومایسین مشاهده شد، که تمام ایزوله ها دارای ژن *vanA* بودند. دیگر مطالعات نیز که بر روی نمونه های مقاوم انجام شده است، نشان داده که اکثر ایزوله های VRE حامل ژن *vanA* بوده و فقط تعداد اندکی از سویه ها حامل ژن *vanB* می باشند (۲۰). در مطالعه جامعی که توسط Bouchillon و همکاران در ۱۳ بیمارستان اروپا و ۳ بیمارستان در خاورمیانه و ۱ بیمارستان در افریقای جنوبی انجام گرفت، اکثریت سویه های جدا شده دارای مقاومت از نوع *vanA* بوده و فقط تعداد بسیار کمی دارای مقاومت از نوع *vanB* گزارش شدند (۲۱). بعضی از محققین کمتر بودن ژن های *vanB* را در نتیجه تحرک کمتر مجموعه ژنی مربوط به این ژن می دانند، علاوه بر این، این ژن اکثرا بر روی کروموزم و بر روی عناصر ژنتیکی بزرگ قرار دارد که شانس انتقال آن را کاهش می دهد، در حالیکه ژن *vanA* بر روی پلاسمید قرار داشته و به راحتی منتقل می شود (۲۱). همچنین در این مطالعه مشاهده شد که علاوه بر ژن *vanA* ژن دیگر ترانسپوزون ژن *vanS* نیز مشابه با سویه استاندارد وجود دارد، که این مسئله می تواند نشان دهنده قابلیت انتقال بالای این ژنها باشد.

از نظر مقاومت آنتی بیوتیکی مشاهده می شود که در مورد سویه های حساس به ونکومایسین عفونت های انتروکوکی را می توان با آنتی بیوتیک هایی مانند گلیکوپپتیدها درمان کرد. اما با کسب مقاومت به ونکومایسین معمولا این باکتری ها نسبت به طیف وسیعی از آنتی بیوتیک ها نیز مقاوم می باشند و بنابراین این باکتری ها در گروه جداگانه ای از نظر مقاومت دارویی مطالعه می شوند. در این مطالعه نیز مشاهده شد که اکثر سویه ها نسبت به آنتی بیوتیک های جنتامایسین (۹۶٪) و سیپروفلوکساسین، اریترومایسین (۸۸٪) و آمپی سیلین (۹۶٪) مقاوم بودند، بنابراین آنتی بیوتیک های معمول نمی توانند انتخاب های درمانی مناسبی در مورد سویه های مقاوم به ونکومایسین باشند. اما نسبت به آنتی بیوتیک های جدید لینزولید و سینرسید مقاومتی مشاهده نشد که می توانند انتخاب های درمانی مناسبی باشند. البته در مورد کلرامفنیکل نیز مقاومت کمی مشاهده شد، اما به دلیل عوارض

مشاهده شده درمورد این دارو استفاده از این دارو جز در موارد خاص توصیه نمی شود.

نتیجه گیری:

مقاومت به ونکومایسین منحصر به سویه های انتروکوک بوده ولی با توجه به مقاومت بالای مشاهده شده در این سویه ها و قابلیت انتقال ژن های آن، احتمال گسترش بیشتر این ژن های مقاومت در بین سویه ها و گونه های دیگر کوکس های گرم مثبت وجود دارد. از طرفی با توجه به افزایش شیوع مقاومت ممکن است در آینده نزدیک شاهد انتقال ژن های مقاومت به باکتری هایی با بیماریزایی بیشتر باشیم. بنابراین استفاده از آنتی بیوتیک های جدید لینزولید و سینرسید جهت از بین بردن سریع این سویه های مقاوم و اقدامات کنترلی موثرتر توصیه می شود.

فهرست مراجع :

1. Tenover FC. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *Am J Infect Control* 2006; **119**(6): S3-S10.
2. Malani PN, Thal LA, Donabedian SM, Robinson-Dunn B, Kauffman CA, Chow JW, *et al*. Molecular analysis of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* from Michigan hospitals during a 10-year period. *J Antimicrob Chemother* 2002; **49**(5):841-3.
3. Smith TL, Pearson ML, Wilcox KR, Cruz C, Lancaster MV, Robinson-Dunn B, *et al*. Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med* 1999; **340**(7):493-501.
4. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhali G. Vancomycin resistant *Enterococci*. *Clinical Microbiol Reviews* 2000; **13**(4): 686-707.
5. Pootoolal J, Neu J, Wright GD. Glycopeptide antibiotic resistance. *An Rev Pharm Tox* 2002; 42: 381-408.
6. Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet* 1988; **1**(2) :57-8.
7. Weigel LM, Clewell DB, Gill SR. Genetic analysis of a high level vancomycin resistant isolate of *Staphylococcus aureus*. *Science* 2003; **302**(5650):1569-71.
8. Courvalin P. Vancomycin Resistance in Gram-Positive Cocci. *Clin Infect Dis* 2006; **42**(1): S25-S34.
9. Garnier F, Gambarotto K, Denis F, Ploy MC. Molecular study of vancomycin-resistant enterococci isolated from humans and from food in a cattle-rearing area of France. *J. Antimicrob. Chemother* 2004; **54**(1):236-9.
10. Facklam RR, Collins MD. Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. *J Clin Microb* 1989; **27**(4):731-4.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, approved Standard, 7th edn (M2-A7). Villanoa: National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2000.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that aerobically;5th ed. Approved Standards M7-A5,vol.20, no 2.National Committee for Clinical Laboratory Standards,Wayne,Pa 2000.
13. Kariyama R, Mitsuhata R, Chow JW, Clewell DB, Kumon H. Simple and reliable multiplex PCR assay for surveillance isolates of vancomycin-resistant enterococci. *J Clin Microbiol* 2000; **38**(8): 3092-5.
14. Yu H S, Seol SY, Cho DT. Diversity of Tn*1546*-Like elements in vancomycin-resistant *Enterococci* isolated from humans and Poultry in Korea. *J Clin Microbiol* 2003; **41**(6): 2641–3.
15. Ohlsen K, Ternes T, Werner G. Impact of antibiotics on conjugational resistance gene transfer in *Staphylococcus aureus* in sewage. *Environ Microb* 2003; **5**(8): 711-6.
16. Mamishi S, Pourakbari B, Ashtiani MH, Hashemi FB. Frequency of isolation and antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from bloodstream infections at Children's Medical Center, Tehran, Iran 1996–2000. *Int J Antimicrob Agents* 2005; **26**(5): 5373-9.
17. Willems RJL, Top J, Santen Mvan, Ashley RD. Global spread of vancomycin resistant *Enterococcus faecium* from distinct nosocomial genetic complex. *Emerg infect dis* 2005; **11**(6): 821-8.

18. Feizabadi MM, Asadi S, Aliahmadi A, Parvin M, Parastan R, Shayegh M, Etemadi G. .Drug resistant patterns of enterococci recovered from patients in Tehran during 2000-2003. *Int J Antimicrob Agents* 2004; **24**(5): 521-2.
19. Emaneini M, Aligholi M, Hashemi FB, Jabalameli F, Shahsavan S, Dabiri H, *et al.* Isolation of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in a teaching hospital in Tehran. *J Hosp Infect* 2007; **66**(1):92-3.
20. Novais, C, Coque T M, Ferreira H, Carlos Sousa J, Peixe L. Environmental contamination with vancomycin-resistant *Enterococci* from hospital sewage in Portugal. *Appl Enviro Microb* 2005 ; **71**(6): 364-8.
21. Bouchillon SK, Hoban DJ, Johnson BM. In vitro evaluation of tigecycline and comparative agents in 3049 clinical isolates: 2001-2002. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; **51**(4): 291-5.