مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۴، شماره ۱۲، اسفند ۱۳۹۵
صفحه: ۹۶۳-۹۷۱

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 24, No.12, Feb-Mar 2017
Pages: 963-971

# ارزیابی فراوانی ژن‌های *vanA*، *vanB* و *vanC1/C2* در سویه‌های انتروکوک مقاوم به ونکومایسین جداشده از بیماران بستری و غیر بستری جنوب استان فارس

**فاطمه حسینی[۱]، محمد کارگر[*۲]**

**چکیده**

**مقدمه:** انتروکوک‌ها پاتوژن‌های فرصت‌طلبی هستند که نقش مهمی را در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی ایفا می‌نمایند. این باکتری‌ها در سراسر جهان به عنوان دومین عامل عفونت مجاری ادراری در بیماران بستری و سرپایی شناخته شده‌اند. این پژوهش با هدف ارزیابی شیوع و شناسایی ژن‌های مقاومت به ونکومایسین و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های VRE انجام شد.

**روش بررسی:** این پژوهش به صورت مقطعی- توصیفی بر روی ۴۸ جدایه انتروکوک جمع‌آوری شده از نمونه ادرار بیماران بستری و سرپایی بیمارستان پیمانیه شهر جهرم انجام شد. جداسازی انتروکوک‌ها به کمک آزمون‌های بیوشیمیایی انجام گرفت. حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های متداول مطابق با استاندارد CLSI با استفاده از روش انتشار دیسک و MIC با روش Broth dilution ارزیابی گردید، سپس وجود ژن‌های van A، van B، van C1/C2 در سویه‌های VRE با روش PCR چندگانه بررسی شد.

**نتایج:** از مجموع سویه‌های انتروکوک، ۱۳ (۲۷/۰۹٪) انتروکوکوس فیکالیس، ۶ (۱۲/۵۰٪) انتروکوکوس فیسیوم و ۲۹ (۶۰/۴۱٪) غیرفکالیس/ غیرفیسیوم شناسایی شدند. در مجموع ۲۱ سویه (۴۳/۷۵٪) از جدایه های انتروکوک نسبت به ونکومایسین مقاومت داشتند. در ۳ سویه (۱۴/۲۸٪) مقاومت به تمامی گروه‌های آنتی‌بیوتیک مورد بررسی مشاهده شد. ۴ سویه (۴۰٪) ژن vanA و ۲ سویه (۲۰٪) ژن vanB را حمل می‌نمودند، اما در هیچ‌کدام از جدایه‌ها، ژن van C1/C2 شناسایی نشد و در ۴ سویه نیز هیچ‌کدام از ژن‌های مقاومت مورد بررسی مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به ظهور گسترده انتروکوک‌های مقاوم به ونکومایسین، ضرورت انجام اقدامات کنترلی و پیشگیرانه و توصیه به عدم مصرف خودسرانه آنتی‌بیوتیک وجود دارد.

**واژه‌های کلیدی:** انتروکوک‌های مقاوم به ونکومایسین، *vanA*، *vanB*، *vanC1/C2*.

**۱- کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم**
**۲-دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم**
**[*](نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۷۳۱۴۹۲۰۳، پست الکترونیکی:** mkargar@jia.ac.ir
**تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۷/۲۷** **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۴**

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26 ]

**مقدمه**

انتروکوک‌ها بخشی از فلور نرمال دستگاه گوارش انسان و گروهی از حیوانات را تشکیل می‌دهند (۴-۱). این باکتری‌ها یک جنس از باکتری‌های لاکتیک اسید هستند که از بیش از ۴۰ گونه تشکیل شده و شناخته‌شده‌ترین آن‌ها انتروکوکوس *فیکالیس* و *انتروکوکوس فیسیوم* است (۵). اغلب عفونت‌های ایجاد شده توسط انترکوک‌ها، عفونت مجاری ادراری و اندوکاردیت است و بر طبق آمارهای موجود انتروکوکوس فیکالیس و انتروکوکوس فیسیوم به ترتیب مسئول ۹۰٪ و ۱۰-۵٪ از عفونت‌های انتروکوکی می‌باشند (۶،۷). از طرفی انتروکوک‌ها، به عنوان عامل مهم عفونت‌های بیمارستانی و عفونت‌های اکتسابی از جامعه نیز مطرح هستند (۸،۹). چندین آنتی‌بیوتیک از جمله بتالاکتام‌ها، ماکرولیدها، آمینوگلیکوزیدها و گلیکوپپتیدها برای درمان عفونت‌های انتروکوکی استفاده می‌شوند؛ اما ونکومایسین به عنوان داروی اختیاری برای درمان عفونت‌های حاصل از این باکتری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. این آنتی‌بیوتیک به عنوان آخرین خط درمانی علیه باکتری‌های گرم مثبت بیماری‌زا با مقاومت چند دارویی محسوب می‌شود و بیش از ۳۰ سال در موارد کلینیکی بدون هیچ‌گونه مقاومت مشخص مورد استفاده قرار گرفته است (۵،۸،۱۰).

انتروکوک‌های مقاوم به ونکومایسین (VRE: Vancomycin Resistance Enterococci) اولین بار در سال ۱۹۸۰ در آمریکا و پس از آن در ۱۹۸۶ در اروپا گزارش شدند (۹)، پس از آن باکتری‌های VRE با سرعتی غیرقابل پیش‌بینی گسترش پیدا کردند و اکنون در بسیاری از بیمارستان‌های مناطق مختلف مواجه با آن‌ها وجود دارد (۸). پژوهش حاضر با هدف ارزیابی و شیوع سویه‌های انتروکوک مقاوم به ونکومایسین و تعین مهم‌ترین ژن‌های ایجاد کننده مقاومت به ونکومایسین در نمونه‌های بالینی بیمارستان پیمانیه شهر جهرم انجام شد.

**روش بررسی**

جمع‌آوری نمونه: این پژوهش به صورت مقطعی– توصیفی بر روی ۴۸ جدایه انتروکوک به دست آمده از ۱۸۹ نمونه ادرار بیماران بستری و سرپایی بیمارستان پیمانیه شهر جهرم از تیرماه ۱۳۹۳ تا تیرماه ۱۳۹۴ پس از کسب موافقت کمیته اخلاق پزشکی انجام پذیرفت. در این پژوهش محدودیتی در مورد سن، جنس و علت بستری برای ورود به طرح وجود نداشت.

جداسازی انتروکوک: در ابتدا تمامی نمونه‌ها بر روی محیط آگار خون‌دار کشت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرماگذاری شدند. کلنی‌ها با رنگ‌آمیزی گرم و آزمون‌های کاتالاز، رشد در دمای ۴۵ درجه سلیسیوس، محیط TSB حاوی ۶/۵ درصد نمک، رشد در محیط بایل اسکولین آگار و آزمون حرکت مورد بررسی قرار گرفتند.

حساسیت آنتی‌بیوتیکی: آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی با روش انتشار دیسک و با استفاده از دیسک‌های ونکومایسین ۳۰µg، آمپی‌سیلین ۱۰µg، تیکوپلانین ۳۰µg، جنتامایسین ۱۰µg، کانامایسین ۳۰µg، سفتازیدیم۳۰µg، کلیندامایسین ۳۰µg، دالفوپریستین- کینوپریستین ۳۰µg، لاینوزولید ۳۰µg و تری‌متوپریم (۱/۲۵) + سولفامتاکسازول (۲۳/۷۵) تهیه شده از شرکت Most کشور انگلستان، بر روی محیط مولرهینتون آگار انجام شد. حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC: Minimum Inhibitory Concentration) ونکومایسین به روش Broth Dilution تعیین گردید. پس از ۲۴ ساعت گرم خانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس حداقل غلظت مهاری بر اساس دستورالعمل پیشنهادی (CLSI: Clinical and Laboratory Standard Institute) قرائت شد (۱۱).

شناسایی مولکولی گونه‌های انتروکوک و ژن‌های *vanA*، *vanB*، *vanC1/C2*: پس از شناسایی جنس انتروکوک استخراج DNA باکتری با روش پیشنهادی Jia و همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام شد (۳). به منظور تایید جنس *انتروکوکوس*، تعیین گونه‌های *انتروکوکوس فیکالیس* و *انتروکوکوس فیسیوم* (۱۲،۱۳) و شناسایی ژن‌های *van A*، *van B* و *vanC1/C2* از PCR چندگانه (Multiplex PCR) و پرایمرهای اختصاصی آن‌ها استفاده گردید (جدول ۱) (۱۴). واکنش PCR با حجم



[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26 ]

نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر DNA الگو، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر، ۱/۵ میکرولیتر $MgCl_2$، ۰/۵ میکرولیتر dNTP و ۱۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر انجام گردید. در ادامه واکنش PCR جهت تایید جنس انتروکوکوس و شناسایی گونه‌های فیکالیس و فیسیوم در دستگاه ترموسایکلر با شرایط دمایی ۴ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۵ درجه سلسیوس و در ادامه ۳۰ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۵۷ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، طویل شدن در مرحله ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه انجام شد. محصول PCR به ژل آگاروز ۱/۵٪ دارای اتیدیوم بروماید منتقل و الکتروفورز گردید.

سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین نیز به منظور شناسایی ژن‌های *vanA*، *vanB* و *vanC1/C2* به‌وسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مورد ارزیابی قرار گرفتند. از *انتروکوکوس فیسیوم* BM4147 حامل ژن *vanA*، *انتروکوکوس فیکالیس* V583 حامل ژن *vanB*، *انتروکوکوس گالیناروم* BM4147 حامل ژن *vanC1* و *انتروکوکوس کسلی فلاووس* ATCC25788 حامل ژن *vanC2* به عنوان کنترل مثبت به منظور تعیین کنترل کیفی (QC) استفاده گردید. همچنین از سویه انتروکوکوس فیکالیس ATCC29212 حساس به ونکومایسین به عنوان کنترل منفی استفاده شد. آنالیز آماری داده ها با استفاده از نسخه شانزدهم نرم‌افزار SPSS و آزمون مربع کای انجام شد. سطح معنی‌داری در $p<۰/۰۵$ قرار داده شد.

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

| نام پرایمر | توالی 5' ⟶ 3' | ژن | اندازه محصول | منبع |
|---|---|---|---|---|
| Ent151f | ACACCTGGAACAGGTGC | *16S rRNA* | ۲۴۳ | ۱۳ |
| Ent376R | TCGGTCAGACTTCCGTCC | *16S rRNA* | ۲۴۳ | ۱۳ |
| FL1 | ACTTATGTGACTAACTTAACC | *SodA* | ۳۶۰ | ۱۲ |
| FL2 | TAATGGTGATCCTGGTTTGG | *SodA* | ۳۶۰ | ۱۲ |
| FM1 | GAAAAAACAATAGAAGAATTAT | *SodA* | ۲۱۵ | ۱۲ |
| FM 2 | TGCTTTTTTGATTTTCTTTA | *SodA* | ۲۱۵ | ۱۲ |
| EA1(+) | GGGAAAACGACAATTGC | *vanA* | ۷۳۲ | ۱۴ |
| EA2(-) | GTACAATGCGGCCGTTA | *vanA* | ۷۳۲ | ۱۴ |
| EB3(+) | ACGGAATGGGAAGCCGA | *vanB* | ۶۴۷ | ۱۴ |
| EB4(-) | TGCACCCGATTTCGTTC | *vanB* | ۶۴۷ | ۱۴ |
| EC5(+) | ATGGATTGGTAYTKGTATC | *vanC1/C2* | ۸۱۵/۸۲۷ | ۱۴ |
| EC6(-) | TAGCGGGAGTGMCYMGTAAC | *vanC1/C2* | ۸۱۵/۸۲۷ | ۱۴ |

## نتایج

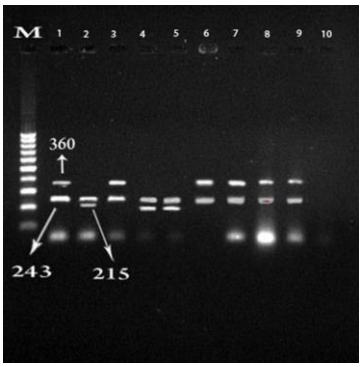
بیشترین میزان انتروکوک از بخش داخلی و کمترین آن از بخش Screen جداسازی شد (جدول ۲). از مجموع ۴۸ جدایه انتروکوک شناسایی شده ۱۳ جدایه (۲۷/۰۹٪) انتروکوکوس *فیکالیس*، ۶ جدایه (۱۲/۵۰٪) *انتروکوکوس فیسیوم* و ۲۵ جدایه (۵۲/۰۸٪) غیرفیکالیس/ غیر فیسیوم به بیماران بستری و ۴ جدایه (۸/۳۳٪) غیر *فکالیس*/ غیر *فیسیوم* مربوط به بیماران غیر بستری بود. نتایج نشان داد که بین جداسازی انتروکوک و بخش داخلی ارتباط معنی‌داری وجود دارد (p=۰). از مجموع جدایه‌های انتروکوک جدا شده از بیماران بستری، ۲۱ مورد (۴۳/۷۵٪) سویه‌های VRE بودند؛ اما ۴ جدایه جداسازی شده از بیماران غیر بستری، همگی نسبت به ونکومایسین حساسیت داشتند. همچنین بین جداسازی انتروکوک و عفونت‌های اکتسابی بیمارستانی ارتباط معنی‌داری مشاهده شد. سویه‌های یاد شده بیشترین میزان مقاومت را به

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26 ]

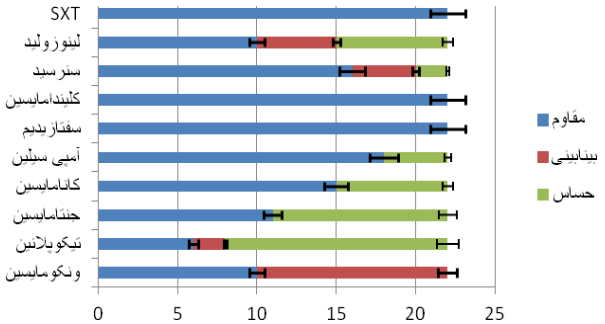
سفتازیدیم، کلیندامایسین و SXT و کمترین میزان مقاومت را نسبت به تیکوپلانین داشتند (نمودار ۱). با استفاده از آزمون مربع کای پیرسون مشخص شد که بین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تیکوپلانین (p=۰) و آمپی‌سیلین (p=۰/۰۰۱) و نمونه‌های بالینی ارتباط معنی‌داری وجود دارد. با اندازه‌گیری MIC ونکومایسین مشخص شد که ۱۰ سویه (۴۷/۶۲٪) مقاومت بیشتر از ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارند؛ اما هیچ‌کدام از جدایه‌ها مقاومت بینابینی نسبت به ونکومایسین نداشتند. ۴۰٪ از سویه‌ها دارای ژن *vanA* و ۲۰٪ از سویه‌های مقاوم دارای ژن *vanB* بودند؛ اما هر دو ژن *vanA* و *vanB* به طور هم زمان در هیچ کدام از سویه‌ها مشاهده نگردید و هیچ سویه‌ای نیز ژن *vanC1/C2* را نداشت (شکل ۲). همچنین در ۴ سویه با مقاومت بیشتر از ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر هیچ‌کدام از ژن‌های مورد بررسی وجود نداشت. با آزمون مربع کای پیرسون مشخص شد که بین ژن‌های مقاومت و نمونه‌های بالینی ارتباط معنی‌داری وجود ندارد (p=۰/۲۹۰).

جدول ۲: توزیع فراوانی و نسبت درصد نمونه‌های انتروکوک شناسایی شده از نمونه‌های کلینیکی مورد پژوهش

| نام بخش | تعداد |
|---|---|
| بخش جراحی | ۵ (۱۰/۴۲٪) |
| بخش داخلی | ۱۷ (۳۵/۴۲٪) |
| CCU | ۷ (۱۴/۵۸٪) |
| ICU | ۳ (۶/۲۵٪) |
| بیماران سرپایی | ۴ (۸/۳۳٪) |
| زنان باردار | ۴ (۸/۳۳٪) |
| زنان دارای سقط‌جنین | ۸ (۱۶/۶۷٪) |
| Screen | ۰ |
| جمع کل | ۴۸ (۱۰۰٪) |

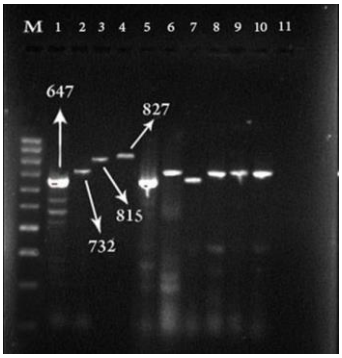



شکل ۱: نمایش ژن‌های شناسایی شده به منظور شناسایی گونه انتروکوک. M: سایز مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ۱: انتروکوکوس فکالیس V583، ۲: انتروکوکوس فیسیوم BM4147، ۳، ۶، ۸ و ۹: انتروکوکوس فیکالیس، ۴ و ۵: انتروکوکوس فیسیوم، ۱۰: کنترل منفی.




نمودار ۱: الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های VRE مورد بررسی

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26 ]




شکل ۲: نمایش ژن‌های مقاومت به ونکومایسین در انتروکوک‌های جدا شده از نمونه‌های بالینی، M: سایز مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ۱: *انتروکوکوس فکالیس* V583 حاوی ژن *vanB*، ۲: *انتروکوکوس فیسیوم* BM4147 حاوی ژن *vanA*، ۳: *انتروکوکوس گالیناروم* BM4174 حاوی ژن *vanC1*، ۴: *انتروکوکوس کسلی‌فلاووس* ATCC25788 حاوی ژن *vanC2*، ۵و۷: سویه حامل ژن *vanB*، ۶،۸،۹ و۱۰: سویه حامل ژن *vanA*، ۱۱: *انتروکوکوس فیکالیس* ATCC29212 کنترل منفی.

## بحث

از دو دهه گذشته تاکنون شیوع عفونت‌های انتروکوکی در کنار افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی مشکلات زیادی را در سیستم بهداشت و درمان کشورها موجب شده است. مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان انتروکوک‌ها در جهان رو به افزایش است؛ که دلیل عمده آن استفاده روزافزون از آنتی‌بیوتیک‌ها است. این امر باعث ایجاد مقاومت در باکتری‌های بیماری‌زا می‌گردد. مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها، همچنین مقاومت دارویی را در باکتری‌های فلور نرمال افزایش داده و با انتقال این مقاومت به باکتری‌های که پتانسیل بیماری‌زایی دارند، درمان عفونت‌های ناشی از آن‌ها را مشکل و پیچیده می‌نماید (۱۵). به دلیل آنکه در چند دهه اخیر ظهور سویه‌های مقاوم در باکتری‌های جدا شده از ادرار افزایش چشمگیری داشته است، نمونه‌های کلینیکی مورد ارزیابی در پژوهش حاضر از ادرار بیماران بستری و سرپایی جمع‌آوری گردید. از ۱۸۹ نمونه ادرار ۴۸ نمونه (۶۲/۳۴٪) انتروکوک بودند. برهانی و همکاران نیز در بررسی ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزیدها در سویه‌های VRE جدا شده از بیماران بستری در تهران، نمونه‌های خود را از ادرار بیماران جمع‌آوری کردند (۲). Jia و همکاران در سال ۲۰۱۴ در چین، ۱۱۵۷ نمونه مدفوع از بیماران ۱۱۷ بیمارستان جمع‌آوری کردند که همگی نمونه‌ها انتروکوک بودند (۳)، به دلیل آنکه انتروکوک‌ها فلور غالب مدفوع هستند؛ این موضوع را می‌توان توجیه نمود. در بین اعضای جنس انتروکوکوس، انتروکوکوس فیکالیس و انتروکوکوس فیسیوم شایع‌ترین گونه‌های ایجادکننده عفونت‌های انسانی هستند. انتروکوکوس فیکالیس در عفونت‌های انتروکوکی نقش بیشتری دارد، اما انتروکوکوس فیسیوم توانایی بالایی در کسب انواع ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی از خود نشان می‌دهد و به شرایط محیطی مختلف مقاوم‌تر است (۱۶). در این پژوهش ۱۳ سویه (۲۷/۰۸٪) انتروکوکوس فیکالیس، ۶ سویه (۱۲/۵۰٪) انتروکوکوس فیسیوم و ۲۹ سویه (۶۰/۴۲٪) غیرفیکالیس/غیرفیسیوم (Enterococcus spp.) شناسایی گردید. در پژوهش وهابی و همکاران نیز ۱۸۹ سویه (۶۴/۹٪) انتروکوکوس فیکالیس و ۸۶ سویه (۲۹/۵٪) انتروکوکوس فیسیوم و ۱۶ سویه (۵/۵٪) به عنوان غیرفکالیس/غیر فیسیوم شناسایی شد (۱۷). قلندرزاده و همکاران ۳۸ سویه (۷۰/۴۰٪) انتروکوکوس فیکالیس، ۱۰ سویه (۱۸/۵۰٪) انتروکوکوس فیسیوم، ۳ سویه (۵/۵۵٪) انتروکوکوس هیرا، ۱ سویه (۱/۸۵٪) انتروکوکوس دورانس، ۱ سویه (۱/۸۵٪) انتروکوکوس آویوم و ۱ سویه (۱/۸۵٪) انتروکوکوس موندتی از نمونه‌های کلینیکی مختلف جدا سازی



[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26 ]

نمودند (۱۵). وجود مقاومت ذاتی انتروکوک‌ها به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های متداول، موجب افزایش و غالب شدن سویه‌های دارای مقاومت چندگانه (MDR) در روده می‌شود؛ بنابراین امکان دریافت ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزیدها، پنی‌سیلین، تتراسایکلین و ونکومایسین فراهم می‌گردد (۱۸). در پژوهش حاضر فراوانی سویه‌های انتروکوک مقاوم به ونکومایسین در بیماران بستری ۴۳/۷۵٪ و در بیماران غیر بستری ۰٪ گزارش گردید. این نتایج مشابه سایر پژوهش‌ها داخل و خارج از کشور، تایید می‌کند که انتروکوک‌ها شایع‌ترین عامل عفونت‌های اکتسابی بیمارستانی هستند (۳-۱، ۱۰،۲۳). تمامی سویه‌های VRE همچون پژوهش Goldstein و همکاران در سال ۲۰۱۰ در ایالت متحده مقاومت چندگانه (MDR) داشتند (۱۹). اصلی‌ترین دلیل مقاومت به ونکومایسین استفاده بیش از اندازه آن در درمان عفونت‌های حاصل از انتروکوک است. همچنین تجویز ونکومایسین در درمان عفونت‌های ایجادشده توسط باکتری‌های دیگر می‌تواند موجب مقاومت شود، چرا که انتقال ژن توسط باکتری‌های دیگر را امکان‌پذیر می‌سازد (۲۰). میزان مقاومت به لینوزولید در پژوهش حاضر، مانند نتایج گزارش شده Zhanel و همکاران در آمریکا در سال ۲۰۰۲ نسبت به سایر پژوهش‌های گزارش شده قبلی بیشتر بود (۶). تفاوت در میزان مصرف آنتی‌بیوتیک در بیمارستان، میزان مقاومت ارگانیسم‌های بیمارستانی و حتی محیط بیمارستان می‌تواند دلیل بر این امر باشد. از سوی دیگر مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها نیز در افزایش میزان مقاومت نقش عمده‌ای را ایفا می‌کند (۲). همانند سایر پژوهش‌ها در خارج و داخل کشور ژن vanA، ژن غالب در میان سویه‌های VRE تعیین شد (۱۵،۱ ،۲۲،۲۱) و همچون پژوهش Elhani و همکاران درتونس، بین فنوتیپ مقاومت و ارزیابی ژنوتیپ هم‌خوانی وجود داشت (۲۱).

در پژوهش تیمورنژاد و همکاران در سال ۱۳۹۰ وجود ژن‌های مقاومت van A،B،C،D،E بررسی گردید. در پژوهش یاد شده ۲۳ جدایه مقاومت زیاد به ونکومایسین نشان دادند که ۱۲ سویه (۵۲/۲٪) حامل ژن vanA، ۷ سویه (۳۰/۴٪) حامل ژن vanB و ۳ سویه (۱۳٪) هر دو ژن vanA و vanB را داشتند. در پژوهش حاضر نیز مانند پژوهش یاد شده، ۴ سویه دارای مقاومت زیاد به ونکومایسین، هیچ‌کدام از ژن‌های مقاومت مورد ارزیابی را حمل نمی‌کردند. شایان یادآوری است که دلیل مقاومت زیاد به ونکومایسین در جدایه‌های فاقد ژن‌های vanA، vanB و vanC به احتمال زیاد می‌تواند، افزایش ساخت پپتیدوگلیکان در دیواره سلولی باشد (۲۳). بیشتر بودن فراوانی ژن vanA در اکثر پژوهش‌ها و پژوهش حاضر به دلیل قابلیت بالای انتقال ترانسپوزون است.

## نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش شیوع بالای سویه‌های انتروکوک مقاوم به ونکومایسین را در بیماران بستری و سرپایی نشان داد. از آنجایی که قابلیت انتقال این سویه‌ها از طریق دست کارکنان بیمارستان و لوازم و تجهیزات بیمارستانی وجود دارد، ارزیابی بیشتر در این زمینه ضروری است. همچنین جلوگیری از مصرف خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌ها پیشنهاد می‌گردد.

## سپاسگزاری

مقاله حاضر بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم به شماره ۸۷۰۰۱۴۰۴۳ بود. نویسندگان این مقاله از معاون پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم و جناب آقای مسعود رحمانیان کارشناس محترم آزمایشگاه تحقیقاتی به دلیل همکاری صمیمانه در انجام این پژوهش کمال تشکر و قدرانی را دارند.

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26 ]

## *References:*


*1-* Ameri S, Talebi M, Rahimi F, Pourshafie M, Ebrahimipour G. ***The homogeneity of vanB gene cluster among enterococcal isolates in Iran.*** Laters Appl Microbiol 2008; 48: 157-61.

*2-* Borhani K, Talebi M, Rahimi F, Pourshafi M. ***Aminoglycoside-resistant genes in vancomycin - resistant Enterococcus faecium strains isolated from patients hospitalized in Tehran.*** Iran J Infect Dis Trop Med 2009; 14(45): 23-26. [Persian]

*3-* Jia W, Li G, Wang W. ***Prevalence and Antimicrobial Resistance of Enterococcus Species: A Hospital-Based Study in China.*** Int J Environ Res Public Health 2014; 11: 3424-3442.

*4-* Rahimi F, Talebi M, Saifi M, Pourshafie MR. ***Distribution of Enterococcal Species and Detection of Vancomycin Resistance Genes by Multiplex PCR in Tehran Sewage.*** Iran Biomed J 2007; 11: 161-167.

*5-* Varela A, Ferro G, Vredenburg J, Yanık M, Vieira L, Rizzo L, et al. ***Vancomycin resistant enterococci: From the hospital effluent to the urban wastewater treatment plant.*** Sci Total Environ 2013; 450-451: 155-161.

*6-* Zhanel GG, Laing NM, Nichol Ka, Palatinick LP, Noreddin A, Hisanaga T, et al. ***Antibiotic activity against urinary tract infection (UTI) isolates of vancomycin-resistant enterococci (VRE): results from the 2002North American Vancomycin Resistant Enterococci Susceptibility Study (NAVRESS).*** J Antimicrob Chemother 2003; 52: 382–388.

*7-* Simonsen G, Småbrekke L, Monnet D, Sørensen T, Møller Kristinsson K, Lagerqvist-Widh A, et al. ***Prevalence of resistance to ampicillin, gentamicin and vancomycin in Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium isolates from clinical specimens and use of antimicrobials in five Nordic hospitals.*** J Antimicrob Chemother 2003; 51: 323-331.

*8-* Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall C. ***Vancomycin-Resistant Enterococci.*** Cli Microbiol Rev 2000; 13(4): 686–707.

*9-* Ghasemi A, Moniri R, Mosavi Gh. ***Studying multidrug resistance in Enterococcus faecalis strains isolated from clinical samples in Shahid Beheshti hospital and the maternity hospital of Shabih Khani in Kashan in 2008.*** Iran J Med Microbiol 2009; 3(2,3): 21-6. [Persian]

*10-* Jabarishayadeh M, Monirei R, Khorshidi A, Saba M, Mosavi GH, Salehi M. ***Evaluation of the prevalence of vancomycin resistant enterococci strains isolated from patients hospitalized in the ICU in Kashan.*** J Microbiol World 2012; 5(1,2): 58-65. [Persian]

*11-* Clinical and Laboratory Standards Institute. ***Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement. M100S222012.*** Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute 2012.

*12-* Jackson CRJ, Fedorka-Cray PB, Barrett J. ***Use of a Genus- and Species-Specific Multiplex PCR for Identification of Enterococci.*** J Clin Microbiol 2004; 8: 3558–3565.


[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26 ]

***13-*** Ryu H, Henson M, Elk M, Toledo-Hernandez C, Griffith J, Blackwood D, et al. ***Development of Quantitative PCR Assays Targeting the 16s rRNA Gense of Enterococcus* spp. *and Their Application to the Identification of Enterococcus Species in Environmental Samples.*** Appl Environ Microbiol 2012; 79: 196-203.

***14-*** Depardieu F, Perichon B, Courvalin P. ***Detection of the van Alphabet and Identification of Enterococci and Staphylococci at the Species Level by Multiplex PCR***. J Clin Microbiol 2004; 42(12): 5857–860.

***15-*** Ghalandarzadeh daryai Z, Javadpour S, Kargar M. ***Evaluation of supply of vanA & vanB in vancomycin resistance of in Enterococcuse isolated of clinical species of martyr Mohammady in Bandar Abbas.*** J microbial World 2013; 6(1): 23-33. [Persian]

***16-*** Sadowy E, Luczkiewicz A. ***Drug-resistant and hospital-associated Enterococcus faecium from wastewater, riverine estuary and anthropogenically impacted marine catchment basin.*** BMC Microbiol 2014; 66(1-15).

***17-*** Vahabi A, Hasani A, Nahaei M, Farajnia S. ***The prevalence ampicillin, gentamicin and vancomycin resistant enterococci in stool samples of hospitalized patients and outpatients in three hospitals of the University of Medical Sciences.*** Med J Tabriz Univ Med Sic 2011; 33(3): 78-85. [Persian]

***18-*** Rahimi F, Talebi M, Saifi M, Pourshafie M. ***Biochemical and genetic investigation of Enterococci strains isolated from municipal sewage of Tehran with an emphasis on strains containing vanA and vanB genes.*** Iran J Infect Dis Trop Med 2008; 42: (31-37). [Persian]

***19-*** Goldstein R, Micallef S, Gibbs S, George A, Claye E, Sapkota A, et al. ***Detection of vancomycin-resistant enterococci (VRE) at four U.S.wastewater treatment plants that provide effluent for reuse.*** Sci Total Environ 2014; 466–467: 404–411.

***20-*** Schouten MA, Hoogkamp-Korstanje JAA, Meis JFG, Voss A. ***Prevalence of Vancomycin-Resistant Enterococci in Europe.*** Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000; 19: 816-822.

***21-*** Elhani D, Klibi N, Dziri R, Ben Hassan M, Asli Mohamed S, Ben Said L, et al. ***vanA-containing E. faecium isolates of clonal complex CC17 in clinical and environmental samples in a Tunisian hospital.*** Diagn Microbiol Infec Dis 2014; 11: 1-4.

***22-*** Iversen A, Kühn I, Franklin A, Möllby R. ***High Prevalence of Vancomycin-Resistant Enterococci in Swedish Sewage.*** Appl Environ Microbiol 2002; 68(6): 2838-842.

***23-*** Teymornejad A, MohebatiMobarez A, Hosseinidost R. ***Epidemiological investigation of the vancomycin-resistant genes in Enterococci isolated from the clinical samples.*** J Fasa Univ Med Sci 2011; 1(2): 59-63. [Persian]

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26 ]

# Study of Frequency of Vana, Vanb and VanC1/C2 Genes in Vancomycin Resistant Enterococci Strains Isolated from Hospitalized and Non-Hospitalized Patients in South of Fars province

**Fatemeh Hosseini[1], Mohammad Kargar[*2]**

[1] Department of Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, Iran
[2] Department of Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, Iran.

**Received: 18 Oct 2016** **Accepted: 24 Dec 2016**

## Abstract

**Introduction:** *Enterococci* are opportunistic bacteria that play a significant role in creating nosocomial infections. These bacteria were recognized as the second cause of urinary tract infections in hospitalized and non-hospitalized patients all over the world. The aim of this study was to identify the prevalence of vancomycin resistance genes and antibiotic resistance patterns in VRE strains.

**Methods:** This cross-sectional study was carried out on 48 *Enterococcus* isolates collected from urinary of hospitalized and non-hospitalized patients in the Pymaniyeh Hospital in south of Fars Province. *Enterococci* separation was performed through Biochemical tests. Sensitivity to conventional antibiotics and vancomycin according to CLSI criteria was conducted by using disk diffusion method and measuring MIC was performed through Broth dilution method. Then the presence of *van A, van B, van C1/C2* genes in VRE strains were measured through multiplex PCR technique.

**Results:** Out of total isolated *Enterococci*, 13 (27.08%) belonged to *E.faecalis*, 6 (12.50%) to *E.faesium* and 29 (60.42%) non-*faecalis* and non-*faecium*. In total, 21 strains (43.75%) were VRE and resistance to all groups of antibiotics observed in 3 (14.28%) strains. 4 strains (40%) had *vanA* gene and 2 strains (20%) had *vanB* gene. But none of the strains were carrying *vanC1/C2* and none of the investigated genes observed in 4 strains.

**Conclusion:** According to the wide emergence of the vancomycin resistant enterococci, application of precautionary and management procedures are highly required. Furthermore, avoidance from arbitrarily taking of antibiotics is recommended.

**Keywords:** Vancomycin-Resistant Enterococci; Vana; Vanb; Vanc1/C2.

**This paper should be cited as:**

Hosseini F, Kargar M. **Frequency of vana, vanb and vanc1/c2 genes in vancomycin resistant enterococci strains isolated from hospitalized and non-hospitalized patients in south of Fars province.** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2017; 24(12): 963-971.

***Corresponding author: Tel: 09173149203, email: mkargar@jia.ac.ir***

[ Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-26 ]