مجله میکرب شناسی پزشکی ایران
سال ۴ شماره های ۱و۲ ، بهار و تابستان ۱۳۸۹، صفحات ۲۵-۱۷

بررسی اپیدمیولوژیک انتروکوک مقاوم به وانکومایسین در کودکان مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد بستری در بیمارستان‌های حضرت علی اصغر (ع) و محک تهران در سال ۸۷-۱۳۸۶

علیرضا ناطقیان[۱ *]، خدیجه ارجمندی[۲]، پروانه وثوق [۳]،عبدالله کریمی[٤] ، آزیتا بهزاد[٥]، معصومه نوید نیا [٦]

۱) گروه عفونی کودکان، بیمارستان حضرت علی اصغر(ع)، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران
۲) گروه خون و انکولوژی کودکان، بیمارستان حضرت علی اصغر(ع)، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران
۳) گروه خون و انکولوژی کودکان، بیمارستان محک، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران
٤) گروه عفونی کودکان، مرکز تحقیقات عفونی اطفال دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
٥) متخصص کودکان، بیمارستان حضرت علی اصغر(ع)، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران
٦) گروه میکرب شناسی، مرکز تحقیقات عفونی اطفال دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
نویسنده رابط: علیرضا ناطقیان، گروه عفونی کودکان، بیمارستان حضرت علی اصغر(ع)، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران
تلفن:۲۲۲۲۲۰۴۱ nateghian@hotmail.com

تاریخ دریافت:۸۸/۸/۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/۱/۱٤

چکیده:

زمینه و اهداف: انتروکوک‌های مقاوم به وانکومایسین (vancomycin resistant enterococci=VRE)، در بیماران مبتلا به نقص ایمنی عامل عمده افزایش ابتلاء و مرگ ومیر هستند. هدف این مطالعه تعیین فراوانی حاملین انتروکوک مقاوم به وانکومایسین در کودکان مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد، تعیین اپیدمیولوژی مولکولی آن و عوامل خطر ساز موثر در شیوع آن در سال‌های ۸۷-۱۳۸٦ بود.

روش بررسی: در یک مطالعه توصیفی _مقطعی نمونه مدفوع ۱۳۰ کودک مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد مراجعه کننده به ۲ بیمارستان تهران (علی اصغر(ع) و محک)، بر روی محیط‌های انتروکوک آگار و آگار خوندار کشت داده شد. ارگانیسم‌های جدا شده به روش باکتریولوژی تعیین هویت شدند. حداقل غلظت بازدارنده وانکومایسین به روش macrodilution تعیین شد. سرانجام PCR با پرایمرهای Van A و VanB انجام گردید. سایر اطلاعات از طریق پرسشنامه و با رجوع به پرونده بیماران تکمیل شد. برای تجزیه وتحلیل داده‌ها از آزمون‌های آماری STT ، Mann whithney new، Chi-sqare ، Fisher exact ، Anova و Kruskal-Wallis استفاده شد.

یافته‌ها: از کشت نمونه مدفوع ۱۳۰ کودک (با متوسط سنی ٦/٥ سال) در ۹٥ نمونه (۷۳٪) انتروکوک جدا شد. از ۳۳سویه (۳٤/۷٪) انتروکوک مقاوم به وانکومایسین، ۲٦ سویه (۷۸/۸٪) واجد فتوتیپvanA و ۷ سویه (۲۱/۲٪) دارای فتوتیپ vanB بودند. سابقه بستری در ICU با اکتساب انتروکوک ارتباط معنی داری داشت (P=0.03)، و با اکتساب VRE هم روندی به سمت معنی دار شدن نشان داد (P=0.07). بین وجود vanA و vanB در سویه‌های VRE و متغیر سن تفاوت معنی دار مشاهده شد (P=0.007). بین متغیرهای جنس، مدت زمان بیماری، تعداد بستری‌های قبلی، وجود بیماری همزمان دیگر، سابقهٔ نوتروپنی شدید در یک ماه قبل از جمع‌آوری نمونه، سابقه مصرف آنتی بیوتیک در ۳ ماه قبل و اکتساب VRE ارتباط معنی دار مشاهده نشد (P>0.05).

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان می‌دهد که شیوع VRE در کودکان ایرانی مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد زیاد است. اجرای برنامه‌های مداخله‌ای جهت کنترل آن بسیار ضروری به نظر می‌رسد.

کلید واژه‌ها: انتروکوک مقاوم به وانکومایسین, عوامل خطر ساز, لوسمی لنفوبلاستیک حاد, کودکان

مقدمه:

انتروکوکسی فلور نرمال دستگاه گوارش انسان و حیوانات است. دو گونه *Enterococcus faecalis* و *Enterococcus faecium* بیشترین گونه‌های بیماریزا در انسان هستند. اهمیت این ارگانیسم، در مقاومت آن به آنتی‌بیوتیک‌ها (به خصوص سفالوسپورین‌ها و آمینوگلیکوزیدها) است. با مقاومت روز افزون به گلیکوپپتیدها (وانکومایسین) و ابتلاء و مرگ‌ومیر بالای آن، کنترل انتروکوک مشکل‌تر شده و تعیین اپیدمیولوژی و عوامل خطر ساز موثر در گسترش آن حیاتی به نظر می‌رسد(۱). مقاومت شدید انتروکوک به گلیکوپتیدها اولین بار در سال ۱۹۸٦ در اروپا و یک سال بعد در آمریکا گزارش گردید. از آن زمان، این ارگانیسم به‌طور شایع در آسیا، استرالیا، آمریکای جنوبی و آفریقا افزایش یافته است. در ایران نیز انتروکوک یک خطر مهم و بالقوه برای بخش-های پذیرش دهنده به بیماران مزمن بشمار می آید. در آمریکا در سال های۹۳-۱۹۸۹ میزان مقاومت گزارش شده به این ارگانیسم بر اساس تیم ملی نظارت بر عفونت‌های بیمارستانی از ۰/۳٪ به ۸٪ افزایش یافت. این افزایش به خصوص در بخش‌های مراقبت ویژه چشمگیرتر بود (۲). تلاش‌های گسترده در بخش‌های هماتولوژی با انجام اقدامات بهداشتی و مراقبتی دقیق جهت کنترل طغیان‌های کلونیزاسیون با VRE (vancomycin resistant enterococci)، نشان از اهمیت موضوع در این بخش‌ها دارد (۳). در عین حال اهمیت VREدر ایجاد عفونت‌های خطرناک در افراد دچار انواع نقص ایمنی را نیز نمی‌توان نادیده گرفت (٤). متاسفانه این عوامل در مطالعات نواحی مختلف جغرافیایی و در گروه‌های مختلف بیماران، بر حسب سن یا نوع بیماری زمینه ای و بسیاری از عوامل دیگر، متفاوت و گاهی متناقض ذکر شده است. این امرانجام مطالعات بومی را با در نظر گرفتن شرایط اپیدمیولوژیک و لحاظ کردن عوامل پیشنهاد شده یا مورد ظن جهت تعیین دقیق نقش آنها ضروری می نماید. برای مثال، بسیاری از مطالعات؛ مصرف نابجای وانکومایسین، فشار آنتی بیوتیکی بیش از حد توسط آنتی بیوتیک‌های دیگر (سفالوسپورین‌های نسل سوم، آمینوگلیکوزیدها، ایمیپنم)، بستری طولانی مدت در بیمارستان، وجود نقص-های زمینه‌ای به‌خصوص سرطان، و دریافت شیمی درمانی را از جمله عوامل خطرساز برشمرده‌اند (۲و ۷-۵). اما، در برخی مطالعات فقط طول اقامت در بخش‌های پرخطر مانند ICU از عوامل خطر ساز به حساب آمده است (۸). به هر حال، هر چه عوامل خطر ساز بیشتر مشخص و کنترل شوند، احتمال مواجهه این بیماران دچار نقص‌های ایمنی یا بیماران نیازمند بستری طولانی با عفونت‌های مقاوم و خطرناک بیمارستانی کمتر خواهد بود(۲).

تعیین فنوتیپ مولکولی مقاومت انتروکوک نیز اهمیت فراوان دارد. اصولا این مقاومت در گونه *E.faecium* شایع‌تر است (۲، ۹،۵) و با فنوتیپ Van A بیشتر مشاهده می شود (۱۰). تا مشخص شدن این عوامل در هر مرکز خاص بیمارستانی، اهمیت برنامه‌های غربالگری یا ارزیابی روزمره (چک روتین) بیماران از مسایلی است که باید در مورد آن تصمیم‌گیری شود. با توجه به میزان کلونیزاسیون آن در مطالعات جدید در بیماران دچار سرطان، لزوم بررسی میزان حاملین و مقاومت به وانکومایسین در آنها بیشتر مطرح می‌شود. بنابراین، تعیین فراوانی حاملین VRE در کودکان مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد (Acute lymphoblastic leukemia:ALL) بستری شده در بیمارستان‌های حضرت علی اصغر (ع) و محک, تعیین اپیدمیولوژی مولکولی و عوامل خطر ساز آن به عنوان اولین مطالعه اختصاصی در یک مرکز فوق تخصصی ارجاعی خون و بیماری‌های عفونی کودکان در کشور الزامی به نظر می‌رسید. به‌طوری که با تعیین فراوانی حاملین VRE و عوامل خطرساز مؤثر بر شیوع آن و با حذف عوامل خطرساز ممکن است بتوان شیوع VRE و عوارض ناشی از آن را کاهش داد .

مواد و روش‌ها:

این مطالعه از نوع توصیفی- تحلیلی است که در بیمارستان ۱٤۰ تختخوابی فوق تخصصی و آموزشی حضرت علی اصغر (ع)، وابسته به دانشگاه علوم پزشکی ایران، و همچنین در بیمارستان غیر آموزشی محک انجام شد. جمعیت مورد مطالعه کلیه کودکانی بودند که تشخیص سرطان ALL در آنها داده شده بود. این افراد در زمان انجام طرح در بخش‌های هماتولوژی ، انکولوژی و عفونی بیمارستان‌های حضرت علی اصغر و محک بستری شده بودند و یا به درمانگاه خون این مراکز مراجعه کرده بودند. معیارهای خروج شامل الف- ابتلاء به سرطان غیر از ALL و ب - عدم رضایت والدین بود.

حجم نمونه بر اساس فرمول $z^2*p*(1-p)/d^2$ = میزان بروز در تحقیقات مشابه که حدود ۵٪ بود (۳) ، با در نظر گرفتن فاصله اطمینان ۹۵٪ و دقت برآورد ۵٪، حدود ۷۵ نفر محاسبه شد، ولی جهت افزایش دقت مطالعه، تعداد به ۱۳۰ نفر افزایش داده شد.

نمونه‌های مدفوع جهت بررسی از نظر وجود انتروکوک، تعیین اپیدمیولوژی مولکولی (نوع مقاومت موجود از نظر VanA یا VanB) به روش‌های کشت و PCR به صورت ذیل به مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی اطفال در بیمارستان مفید فرستاده شد : ابتدا نمونه تازه مدفوع بر روی محیط Enterococcosal agar و Blood agar کشت داده شد. بعد از ۲٤ ساعت کلنی‌های مشکوک جهت تست کاتالاز بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شدند. بعد از ۲٤ ساعت بر روی کلنی‌های مشکوک آزمایش‌های افتراقی صفرا–اسکولین، تحمل نمک (NaCl 6.5%)، سولفید–ایندول موتیلیتی (SIM) و محیط شیر حاوی آبی‌متیلن، آزمایش‌های قندی و اسید آمینه (مانیتول, سوکروز/رافینوز,آرژینین‌دی هیدرولاز ,آرابینوز) و آزمایش PYR انجام شد(۵). حداقل غلظت بازدارنده (MIC) وانکومایسین به روش macrodilution و با استفاده از پودر وانکومایسین, (sigma، آلمان) تعیین شد (۵).

سویه‌ها در دمای ۸۵- درجه سانتی‌گراد در محیط تریپتیکاز سوی براث با ۱۵٪ گلیسرول نگهداری شدند. در زمان مناسب سویه‌ها به دمای اتاق رسانده شد و DNA طبق روش boiling استخراج گردید(۹). PCR با پرایمرهای Van A و VanB انجام شد .توالی پرایمرها برای van AF(forward) , vanAR(reverse), vanBF و vanBR به‌ترتیب به‌صورت ذیل بود:

5'-CAT GAA TAG AAT AAA AGT TGC AAT A-3'
5'-CCC CTT TAA CGC TAA TAC GAT CAA-3'
5'-GTG ACA AAC CGG AGG CGA GGA-3'
5'-CCG CCA TCC TCC TGC AAA AAA-3'

همزمان با جمع آوری نمونه، اطلاعات مورد نیاز با کمک پرسشنامه (حاوی متغیرهای؛ مشخصات دموگرافیک، مدت بیماری کنونی، دفعات بستری، بستری در ICU ، سابقه نوتروپنی شدید، بیماری‌های همزمان و مصرف آنتی-بیوتیک‌ها) ثبت شد.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون‌های مناسب آماری STT برای متغیرهای کمی پیوسته و Mann whithney new برای متغیرهای کمی گسسته Chi-sqare و در صورت لزوم Fisher exact برای متغیرهای کیفی به صورت univariate analysis استفاده شد. سپس برای متغیرهای کمی پیوسته از آزمون Anova و متغیرهای کمی گسسته از Kruskal-Wallis-test جهت تعیین عوامل خطر ساز واقعی کلونیزاسیون VRE و فتوتیپ Van A استفاده شد.

با توجه به پرسشنامه، میزان درصد حاملین VRE به صورت درصد فراوانی و توزیع ژنتیکی آنها نیز به صورت توصیفی تعیین شد. با توجه به اینکه اطلاعات بیمار فاش نمی شد و جمع‌آوری نمونه درد و ناراحتی برای بیمار ایجاد نمی کرد، بنابراین مطالعه مشکل اخلاقی نداشت.

یافته‌ها:

میانگین سن ۱۳۰ کودک مورد مطالعه ٦/٥ سال بود (محدوده سنی بیماران از ٦ ماه تا ١٦/٥سالگی با انحراف معیار ۳/۸) . ٤٧ نفر (٣٦٪) مؤنث و ۸۳ نفر (٦٤٪) مذکر بودند. انتروکوک از ۹۵ نمونه (۷۳٪) جدا شد. از ۹۵ سویه انتروکوک جدا شده ۳۳ سویه(۳٤/۷٪) مقاوم به وانکومایسین بود. متوسط دوره بیماری در بیماران مورد بررسی ۲۲/۷ ± ١٦/٥ ماه بود. ٦٠ نفر (٤٦٪) کمتر از ۱۰ بار سابقه بستری و ۷۰ نفر (٥٤٪) بیشتر از ۱۰ بار سابقهٔ بستری داشتند. ۱۳ نفر (۱۰٪) مشکل دیگری به جز ALL داشتند .در مجموع ۷۵ نفر (۵۸٪) در طول ماه پیش از نمونه گیری حداقل ۱ اپیزود از نوتروپنی شدید را گذرانده بودند، و ۱۲ نفر(۹٪) سابقهٔ بستری قبلی در ICU را داشتند. ۸۵ نفر (٦٧٪) در ۳ ماه پیش از بررسی، آنتی-بیوتیک دریافت کرده بودند که در ۳۵٪ موارد به صورت وریدی بود. شایع‌ترین آنتی بیوتیک مورد استفاده در بیماران مورد مطالعه سفتریاکسون، سفتازیدیم – آمیکاسین، سفکسیم و تری‌متوپریم سولفامتوکسازول بود. سابقهٔ انجام دیالیز در ۲ نفر (۱/۵ درصد) از بیماران وجود داشت، اما سابقهٔ کشت خون مثبت با اسافیلوکک و سابقهٔ مصرف لوله گاستروستومی در هیچکدام از موارد وجود نداشت. سابقهٔ اسهال ناشی از *کلستریدیوم دیفیسیل* در ۱نفر (۰/۷۷٪) یافت شد. انجام بررسی آماری روی این عوامل بالقوه خطرساز امکان پذیر نشد. در مورد بررسی سایر عوامل خطر ساز از نظر خطر حامل بودن انتروکوک (جدول۱)، انتروکوک مقاوم به وانکومایسین(جدول ۲) و فتوتیپ Van A (جدول ۳) آنالیز آماری انجام گردید..

جدول ۱: اکتساب روده‌ای انتروکوک در کودکان مبتلا به ALL به تفکیک عوامل خطرساز

عوامل خطر ساز	گروه واجد انتروکوک (۹۵ نفر)	گروه فاقد انتروکوک (۳۵ نفر)	سطح معنی داری (P value)
متوسط سن(سال)	۶/۴۶	۶/۵۴	./۹
تعداد جنس مذکر	۵۹	۲۴	./۴۰
مدت بیماری(ماه)	۱۴/۸	۲۱	./۱۶
تعداد دفعات بستری در هر گروه	۶۶/۳۴	۶۳/۲۱	./۶۶
تعداد موارد با سابقه نوتروپنی شدید در یکماه اخیر (تعداد مطلق نوتروفیل کمتر از ۵۰۰ در هر میلیمتر مکعب)	۵۶	۱۹	./۶۳
تعداد بیماری همزمان	۸	۵	./۳۳
مصرف آنتی بیوتیک در ۳ ماه اخیر	۶۳	۲۲	./۷
سابقه بستری در ICU	۱۲	۰	./۳*

*** معنی دار**

جدول ۲: اکتساب روده‌ای انتروکوک مقاوم به وانکومایسین به تفکیک عوامل خطرساز در کودکان مبتلا به ALL

عوامل خطر ساز	گروه واجد انتروکوک مقاوم(۳۳ نفر)	گروه فاقد انتروکوک (۹۷ نفر)	سطح معنی داری (P value)
متوسط سن(سال)	۶/۴۳	۶/۵۲	./۹۹
تعداد جنس مذکر	۲۴	۵۹	./۲۳
مدت بیماری(ماه)	۱۲/۹	۱۷/۷	./۳
تعداد دفعات بستری	۶۶/۳۴	۶۲/۷۷	./۶۲
تعداد موارد با سابقه نوتروپنی شدید	۲۱	۵۴	./۵۴
تعداد بیماری همزمان	۳	۱۰	۱ /۰۰
مصرف آنتی بیوتیک در ۳ ماه اخیر	۲۳	۶۲	./۶۷
سابقه بستری در ICU	۶	۶	./۷*

*** روند به سمت معنی داری**

جدول۳: اکتساب روده‌ای فنوتیپ‌های Van A و Van B به تفکیک عوامل خطرساز در کودکان مبتلا به ALL

عوامل خطر ساز	گروه واجد فنوتیپ Van A (۲۶ نفر)	گروه واجد فنوتیپ Van B (۷ نفر)	سطح معنی داری (P value)
متوسط سن(سال)	۷	۴/۱	/. .۷*
تعداد جنس مذکر	۱۷	۷	./۱۴
مدت بیماری(ماه)	۱۳/۴	۱۰/۹	./۸
تعداد دفعات بستری در هر گروه	۱۶/۹۶	۱۷/۴	./۹۶
تعداد موارد با سابقه نوتروپنی شدید	۱۷	۴	./۶۸
تعداد دارای بیماری همزمان	۲	۱	./۵۲
مصرف آنتی بیوتیک در ۳ ماه اخیر	۱۹	۴	./۶۴
سابقه بستری در ICU	۴	۲	./۵۸

*** معنی دار**

بحث:

از ۱۳۰ کودک مبتلا به ALL، ۷۳ در صد واجد انتروکوک هستند، که از میان آنها ۲۵/۳ درصد حامل انتروکوک مقاوم به وانکومایسین می‌باشند. بنابراین، حدود یک سوم (۳٤/۷ درصد) سویه‌ها VRE هستند. شایع‌ترین فنوتیپ جدا شده ، VanA (۷۸/۸ درصد) و سپس VanB (**۲۱/۲** درصد) است.

گرچه متاسفانه مطالعه مشابه در ایران یافت نشد تا بتوان نتایج را با آن مقایسه نمود ولی مطالعه حاضر نشان می‌دهد در ایران نیز انتروکوک یک خطر مهم و بالقوه برای بخش-های پذیرش دهنده بیماران مزمن به‌شمار می آید. بررسی-های انجام شده در ایران در سال‌های اخیر ، توسط بهرام فتح الله زاده در ۳ بیمارستان تهران (**۱۱**) و اوژان اسدیان در بیماران دیالیزی بیمارستان نمازی شیراز (۱۲) و مقایسه آن با نتایج مطالعه اخیر حاکی از افزایش روزافزون خطر VRE است. بیماران مبتلا به بدخیمی به‌دلیل مواجهه زیاد با محیط بیمارستان و دریافت مکرر داروهای شیمی-درمانی و آنتی بیوتیک‌ها از نظر ابتلا به VRE با خطر زیاد مواجه‌اند. خطر انتروکوک‌های مقاوم به وانکومایسین اولین بار در سال ۱۹۸٦ در اروپا و سپس یک سال بعد در امریکا مورد توجه قرار گرفت. فنوتیپ VanA به‌خصوص درگونه *انتروکوکوس فاسیوم* شاخص ایجاد مقاومت شناخته شد(۲و۱۵-۱۳). سپس تعداد در حال افزایش از بیماران با VRE به‌طور مرتب گزارش شده‌اند که در فرانسه، هلند و کره به ترتیب از ۲ درصد به ۲۰ درصد رسید که به خصوص در بخش های مراقبت ویژه بیشتر بوده است(۱٦). در مطالعه Qian zhou ذکر شده که بعد از اولین مورد VRE گزارش شده در ONTARIO درسال۱۹۹۳، تعداد افراد آلوده به‌طور مرتب افزایش یافته است. با توجه به محدودیت درمان و قابلیت انتقال ژن مقاومت وانکومایسین به دیگر باکتری‌ها ، VRE به یک مشکل بهداشتی در سطح جهان تبدیل شده است. با توجه به محدودیت در جداسازی بیماران، کنترل آن مشکل است (**۱۷**) .

بررسی‌های انجام شده در کودکان از نظر VRE بسیار محدود است. لذا، مطالعات اندکی در این مورد یافت شد. به‌عنوان مثال، خطر VRE در اطفال در بیمارستان دانشگاهی Akdeniz ترکیه بررسی شده است که شیوع آن ۱/۵ در صد و همه واجد vanA گزارش شد(۱٤).در مطالعه Harry و همکاران مصرف وانکومایسین قبلی عاملی جهت گسترش VRE ذکر شده است. با توجه به این مطالعه مصرف وانکومایسین در بخش‌های هماتولوژی – انکولوژی و بیماران اطفال پیوند شده حدود ۲۰ برابر است. لذا، میزان و خطر VRE و مرگ و میر ناشی از آن با توجه به محدودیت‌های درمان در این بخش‌ها بیشتر است (۱۸) . خطر بیشترVRE در بیماران این بخش‌ها در مطالعه Iva vangnerova در چک اسلواکی نیز تایید شده است (**۱۹**).

در مطالعه Nalini singh-Naz (۱۹۹٤) در بخش‌های هماتولوژی – انکولوژی اطفال در واشنگتن میزان VRE ، ۲٤ درصد گزارش شده است که از ۱۲٤ بیمار بررسی شده ٤٦ نفر بدخیمی داشته‌اند. البته ذکر نشده که چه میزان از افراد واجد VRE در این گروه قرارگرفته بودند. در مقام مقایسه، میزان کلی VRE مشابه مطالعه ما می‌باشد، اما مسلما این میزان در بیماران مبتلا به بدخیمی کمتر بوده است که البته مطالعه مذکور مربوط به حدود ۱۵ سال قبل است (۱۹). در مطالعه Alexander A.padiglione (۱۹۹۸) ۱/۹۱ درصد از بیماران مبتلا به VRE گزارش شده‌اند. این مطالعه نیز در بخش‌های هماتولوژی، پیوند، کلیه و ICU انجام گرفته و از این میان *E.faecium* با فنوتیپVanB بیشترین گونه جدا شده بوده است. این میزان کم ابتلا به VRE ، مطابق آنچه در این مطالعه بیان شده به علت اجرای مناسب روش‌های کنترل عفونت بوده است. همچنین با توجه به اینکه نمونه به‌صورت سواب رکتال گرفته شده، احتمال منفی شدن نمونه‌ها به‌طور کاذب افزایش یافته است (۲۰) .در مطالعه M.Knoll در فاصله سال‌های ۲۰۰۱-۱۹۹۹، میزان شیوع VREبخش‌های هماتولوژی انکولوژی بیمارستان دانشگاهی، ٦-۳ درصد گزارش شده است و بیشترین فنوتیپ از نوع Van A بوده است (**۳**). در مقایسه با مطالعه حاضر، این میزان بسیار کمتر است اما از نظر فنوتیپ هماهنگی دارد.

در مطالعات سال‌های ۲۰۰۳-۲۰۰۲ ، در ایالت میشیگان آمریکا، VRE حدود ٤۰ درصد گزارش شد، که VanB ۸۹.٤ درصد وVanA ۱۰/٦ درصد بود (۲۱)، که در مقایسه میزان آن تقریبا ۲ برابر است و فنوتیپ کم خطرتری دارد . در همان سال مطالعه‌ای به منظور تعیین فنوتیپ VRE توسط Kedziorska بر روی بیماران مبتلا به سرطان و با نقص ایمنی انجام شد. نتایج نشان داد همه

سویه‌های VRE واجد فتوتیپ VanB بودند(۲۲) .علت این تفاوت می‌تواند مربوط به تفاوت نژادی، رژیم شیمی درمانی و مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها باشد. در همان زمان در ترکیه مطالعه‌ای انجام شد که در آن VRE یافت نشد. البته، انتروکوک با حساسیت متوسط به وانکومایسین یافت شد که ٤٥ درصد آن را *E.faecalis* و ۲۹ درصد را *E.faecium* تشکیل می‌داد. نتیجه این مطالعه مقاومت انتروکوک‌ها به آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین، سیپروفاکسین و نورفلوکساسین را نشان داد، اما عدم وجود VRE بسیار جالب توجه بود(۲۳). این مسئله نشان می‌دهد که حتی در کشورهای همسایه نیز شرایط مختلف است و بستگی به نحوه درمان و وجود عوامل خطر ساز دیگر دارد.

در مورد عوامل خطر ساز، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سابقه بستری در ICU یک عامل جهت اکتساب انتروکوک (P=0.02) است و همچنین با اکتساب VRE نیز روند ارتباطی قوی وجود دارد (P=0.07). در مقایسه بین دو گروه واجد VanA و VanB از نظر سنی، تفاوت معنی دار مشاهده شد. به طوری که میانگین سنی افراد واجد VanA بیشتر بود. این امر می‌تواند به دلیل بستری‌های بیشتر، مصرف بیشتر آنتی‌بیوتیک و در نتیجه مواجهه بیشتر با فتوتیپ خطرناک‌تر باشد. فقط در مطالعه Nalini (۱۹۹٤) از سن پایین به عنوان عامل خطر ساز شناخته شده جهت ابتلا به VRE، یاد شده است که البته در مطالعه ما و سایر مطالعات مطرح نیست. همچنین همانند مطالعه ما در هیچکدام از مطالعات ارجحیت سنی مشاهده نشد. مدت زمان تشخیص بیماری نیز در این مطالعه، رابطه معنی دار نداشت. هر چند انتظار می‌رفت با افزایش مدت زمان بیماری و تماس بیشتر با محیط بیمارستان، این امر افزایش یابد. البته در هیچ یک از مطالعاتی که در بیماران خاص انجام گرفته است، مدت ابتلا به بیماری زمینه‌ای، به‌عنوان عامل خطر ساز ثابت نشده است. در مطالعه ما طول مدت بستری مورد ارزیابی قرار نگرفته است. البته به این دلیل است که اکثر نمونه‌های ما از بیماران سرپایی واجد ALL مراجعه کننده به درمانگاه خون گرفته شده است. این عامل در تعدادی از مطالعات به‌عنوان عامل خطر ساز مطرح شده است (۲، ٤، ۸، ۱۷،۲۰و ۲۱).

در مطالعه حاضر تعداد بستری‌های قبلی به‌عنوان عامل خطر ساز جهت اکتساب VRE مطرح نشد. در بررسی سایر مطالعات (۱۷) نیز این عامل، مطرح نبوده است. در مورد وجود بیماری همزمان دیگر، با توجه به تعداد کم بیمارانی که غیر از ALL بیماری دیگری نیز داشتند، رابطه معنی داری به دست نیامد. در مطالعات دیگر وجود بیماری زمینه ای به‌عنوان عامل خطر ساز مطرح شده است. به‌عنوان مثال، در مطالعه Nalini-Singh ، وجود بدخیمی و کم خونی داسی شکل در اطفال (۱۹) و وجود بیماری زمینه‌ای در مطالعه Askarian ، عامل خطر ساز جهت اکتساب VRE بوده اند (٢٤) . در مطالعه Christidou و همکارانش در سال ۲۰۰۲ در یونان ، وجود سرطان و CRF و همچنین بستری در بخش‌های کلیه و جراحی به‌عنوان عامل خطر ساز مطرح شده‌اند (۲۵). در مقابل در مطالعه Qian zhou، وجود سرطان و دیابت شیرین ، ارتباط معنی داری با اکتساب VRE نداشته است . همچنین این عدم ارتباط در مطالعه Alexendraنیز دیده شده است (۲۰). نوتروپنی شدید در پاره ای از مطالعات به عنوان عامل خطر ساز مطرح شده است (٢٦). اما، در مطالعه ما ارتباط معنی داری بین سابقه نوتروپنی شدید در یک ماه قبل از نمونه گیری و عامل خطر ساز VRE بدست نیامد. سابقه مصرف لوله گاستروستومی هم در مطالعه ما هیچ موردی نداشت و لذا قابل بررسی نبود. در عین حال که این سابقه در برخی مطالعات انجام شده به عنوان یک عامل خطر ساز مطرح است (٦، ۷) بین بستری در ICU و اکتساب انتروکوک ،هم از نوع حساس وهم از نوع مقاوم به وانکومایسین، ارتباط معنی دار یافت شد. دلیل آن می تواند ، وجود ICU به‌عنوان یک بخش پر خطرباشد که در آن؛ بیماران در معرض عفونت‌های مهاجم تری قرار می گیرند، استفاده از وسایل و دستگاه‌های مختلف که احتمال آلودگی بیشتری با انتروکوک دارند، ازدحام ICU ، عدم باور صحیح پزشکان و پرسنل جهت شستشوی صحیح و اصولی دست، و عدم رعایت درست اصول جداسازی باشد. در مطالعات دیگر نیز ، بستری در ICU به‌عنوان یک عامل خطر ساز مطرح بوده است (٤، ۸، ۱۸، ۲۰)، اما در مطالعه Christidou ، ارتباطی در این باره به‌دست نیامده است (۲۵). .البته در بعضی مطالعات همانند مطالعات انجام شده در برزیل (۸) ، تمام مطالعه در ICU انجام گرفته است.

گرچه مصرف آنتی‌بیوتیک در بسیاری از مطالعات به‌عنوان عامل خطر ساز جهت اکتساب VRE مطرح شده است (۵، ۸، ۱۷-۱۲، ۱۹و ۲۹-۲۷)، اما در مطالعات مختلف نوع آنتی‌بیوتیک‌ها متفاوت بوده است. بیشترین اتهام متوجه سفالوسپورین‌های نسل سوم (۱۸، ۱۹، ۲۲، ٢٤و ۲۸) و سپس آنتی بیوتیک‌های ضد بی‌هوازی‌ها، وانکومایسین،

ایمیپنم، مونوباکتام و کارباپنم‌ها بوده است (۷، ۲۰ و۲۵). در مطالعه حاضر عدم ارتباط مصرف آنتی بیوتیک در ۳ ماه گذشته و اکتساب VRE می‌تواند به دلیل تفاوت وضعیت رعایت بهداشت در بیماران ما در مقایسه با مطالعات دیگر باشد. این امر موجب تنوع ارگانیسم‌های روده‌ای بیماران شده و همچنین به سرعت با ارگانیسم‌های مختلف کلونیزه می شود . همچنین می‌توان به تفاوت نژادی در این مطالعات اشاره کرد .از آنجا که به هر حال میزان حامل بودن انتروکوک‌های مقاوم در این مطالعه به نسبت دیگر مطالعات زیاد است (مثلا ۹/٦ درصد در مطالعه Matar و همکاران(۲٦))، افزایش تعداد نمونه می‌تواند به یافتن این ارتباط کمک کنند.

نتیجه گیری:

در این مطالعه ثابت شد که VRE به خصوص از نوع پلاسمیدی در حال گسترش است و میزان حاملین آن در بیماران لوسمیک بسیار زیاد ست. پس عامل زمینه‌ای آن می‌تواند هر عامل خطر سازی باشد که از اهمیت موضوع کم نمی‌کند. پیشنهادات ذیل را می‌توان مطرح نمود:

گرچه هنوز انتروکوک‌های مقاوم به وانکومایسین جزو ارگانیسم‌های شایع موجد باکتریمی یا عوارض جدی در بیماران این دو مرکز نیست، اما این احتمال بالقوه وجود دارد که به تدریج به یک پاتوژن جدی تبدیل گردد، که درمان آن بسیار سخت و عوارضی مانند اندوکاردیت نیز ممکن است در پی داشته باشد(۲٦).

بهبود شرایط ICU ضروری به‌نظر می رسد که توصیه می-شود تعداد تخت‌های ICU متناسب با تعداد پرسنل باشد. روش صحیح بهداشت دست به پزشکان، پرسنل، بیماران و همراهان آموزش داده شود و بر اجرای صحیح آن نظارت شود. از آنجا که شستن به تنهایی با آب و صابون کافی نیست ، بهتر است از صابون آنتی‌سپتیک و نیز ترکیبات بدون آب با پایه الکل استفاده شود. اصول ضد عفونی صحیح دستگاه‌ها و تجهیزات مورد استفاده رعایت شود. جداسازی بیماران مبتلا و کلونیزه باید رعایت شود و از آنها در اتاق جداگانه ای پرستاری شوند. پرسنل در زمان مراقبت حتماً از وسایل محافظت فردی نظیر گان و دستکش استفاده کند. .بررسی بیماران به‌خصوص در بخش‌های پر خطر باید طبق یک برنامه منظم به طور روزمره انجام گیرد. کشت نمونه مدفوع ، سواب رکتال, اطراف رکتوم و ناحیه کشاله ران به صورت پیوسته به فاصله یک هفته انجام شود. در مواردی که سابقه کشت مثبت از هر ناحیه‌ای از بدن وجود دارد ، مجددا کشت تکرار شود و منفی شدن آن اثبات شود .افراد واجد VRE درمان نشده باید مشخص شوند، در پرونده آنها این نکته به‌صورت متفاوتی ثبت شود و در بستری‌های بعدی به آن توجه شود(۲۹). استفاده از آنتی بیوتیک‌ها، باید به‌طور مناسب باشد. یعنی فقط زمانی که مورد نیاز هستند و حتی الامکان از آنتی بیوتیک طیف محدود استفاده شود. باید دستورالعملی برای استفاده از آنتی بیوتیک‌ها در هر مرکز بیمارستانی و اختصاصی آن مرکز تدوین شود. استفاده از وانکومایسین محدود شود و با داروهای مناسب مانند تیکوپلانین جایگزین شود .

تقدیر و تشکر:

این مطالعه در قالب پروژه تحقیقاتی با بودجه و همیاری مرکز تحقیقات عفونی اطفال دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در بیمارستان مفید صورت گرفت. لذا، از ریاست مرکز آقای دکتر کریمی و تمام پرسنل این مرکز به‌خصوص پرسنل آزمایشگاه و سرکار خانم‌ها دکتر طباطبایی و گل نبی تشکر و قدردانی می‌گردد.

فهرست مراجع:

1. Haslam DB.*Entrococcus* In : Kliegman ,Behrman,Jenson and Stanton 'Nelson Textbook of Pediatrics,18th ed. Philadelphia : WB Saunders, 2007 ;PP: 1151-53.
2. Sylvain D,Trish M. Vancomycin-resistant enterococci- a road map on how to prevent the emergence and transmission of antimicrobial resistance . *CHEST J* 2003.,123:504-518
3. M. Knoll ,G. Daeschlein , J. Okpara-Hofmann , Okpara-Hofmann, I. Klare, D. Wilhelms, *et al*. Outbreak of vancomycin-resistant enterococci (VRE) in a hematological oncology ward and hygienic preventive measures. A long-term study . *Onkologie* 2005;28:187-192 .
4. McNeil SA,Malani PN,Chenoweth CE, Fontana RJ; Magee JC; Punch JD, *et al* .Vancomycin-resistant enterococcal colonization and infection in liver transplant candidates and recipients: A prospective surveillance study . *Clin Infect Dis* 2006 ; 42(2):195–203 .
5. Simona F. O, Najam Z, Susan M.D, Mamtha Balasubramaniam, Ellie Hershberger, Marcus J, *et al*. Molecular and clinical epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. *J Antimicrob Chemother* ,2004 ; 53 : 626-30 .

٦. ناجیان ی . بررسی عوامل خطر عفونت با انتروکوک مقاوم به وانکومایسین در بیمارستان حضرت رسول اکرم تهران در سال ۸۱– ۱۳۸۰، دانشگاه علوم پزشکی ایران . پایان نامه برای در یافت درجهٔ دکترای پزشکی به راهنمایی دکتر علیرضا ناطقیان . ش ث : ۳۳۱۲ .

7. Nateghian AR, Robinson JL, Samadi B ,Abdi N .Appropriate use of Vancomycin in an educational tertiary care hospital in Tehran,Iran . *Med J of the Islamic Republic of Iran* 2007 ; 21(1) : 43-49.
8. Furtado GHC , Martins ST, Coutinho AP, Coutinho AP, Soares GMM, Wey SB, *et al* . Prevalence and factors associated with rectal vancomycin-resistant enterococci colonization in two intensive care units in São Paulo, Brazil . *Braz J Infect Dis* 2005 ; 9(1) PP:64-69.
9. Ghidán A, Jeney C, Csaba L, Csiszár K, Rozgonyi F . PCR detection of the *vanA* gene in a vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* clinical isolate from Hungary . *J Antimicrob Chemother* ,2000 ; 46: 325-327 .

۱۰. فیض آبادی م، اسدی س، خطیبی س، اصغر زاده، مبشری ف، اعتمادی گ و همکاران . بررسی الگوی مقاومت دارویی سویه های فکالیس و فاسیوم انتروکوک در بیمارستان لبافی نژاد و شهید چمران سال های ۸۲–۷۹ . *مجله دانشگاه علوم‌پزشکی شهید بهشتی* ۱۳۸۳ ، سال نهم. شماره ٤٢ ، صص ۳۳۹–۳۳۳

11. Fatholahzadeh B, Hashemi F, Emaneini M , Aligholi M, Kazemi B, Sadeghi *, et al*. Detection of vancomycin resistant enterococci (VRE) isolated from urinary tract infections (UTI) in Tehran, Iran . *DARU* 2006 ; 14(3):141-5.
12. Assadian O, Askarian M, Stadler M, Shaghaghian S. Prevalence of Vancomycin-resistant enterococci colonization and its risk factors in chronic hemodialysis patients in Shiraz, Iran. BMC Infect Dis 2007; 52(7) .online journal.
13. Alexandra E, Gebhard F,Gregor G, Franz D, Herald H,Kessler A,*et al*. High prevalence of VanA-type vancomycin-resistant enterococci in Austrian poultry . *Appl Environ Microbiol*, 2005 ; 71(10): 6407-09.
14. Ayla E, Thierry N, Betil OB ,Dilara O, Dilara I,Dilek C,*et a*l. Nosocomial outbreak of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in a paediatric unit at a Turkish university hospital . *J Antimicrob Chemother* 2008 ; 61(5) :1033-1039 .
15. Iva V, Pavel S, Milan K, Sabina S,Jaromir H,Edgar F,*et al* **.** Sources and Pathways of spread of vancomycin-resistant enteroccocci in hematology-oncological patients . *Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2006 ;150(1):117–120.
16. Antonia T. T, Luis Gustavo O.C, Giane V.C , Sonia R,Angela Von N,Periera R,*et al* **.** Low prevalence of vancomycin resistant enterococci colonization in intensive care patients in a Brazilian teaching hospital . *Braz J Infect Dis* l 2006 ;.**10** (4) ,:250-9.
17. Qian Z, Christine M, Sarah E,Noble WC,Virani Z,Cree RGA*, et al* . Factors associated with acquisition of vancomycin-resistant enterococci (VRE) in roommate contacts of patients colonized or infected with VRE in a tertiary care hospital . *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; **29**:398-403

18. Harry L.K, Ronda L.S, James M.H,Gil L,Jane DS,Beth HS, *et al*. Vancomycin use in hospitalized pediatric patients . *AAP* 2003; 112(2) :104-111.
19. Nalini SN, Ambreen S, Andreas P, Rantilal M,Campos J. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* colonization in children . *JCM* 1999 ; 37(2) : 413-16 .
20. Alexander A. P, Rory W,Elizabeth A.G ,Di O,Pearson S,Franklin C**,** ***et al*** **.** Risk factors for new detection of vancomycin-resistant enterococci in acute-care hospitals that employ strict infection control procedures . *Antimicrob Agent Chemother*, 2003 ;47(8**) :** 2492-98 .
21. Preeti N. M, LeeAnn T, Susan M.D **,**Robinson D,Kauffman C,Cow J, *et al* . Molecular analysis of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* from Michigan hospitals during a 10 year period . *J Antimicrob Chemother*, 2002 ;**49**(5) : 841-843.
22. Kedzierska J, Wegrzyn J, Skotnicki AB,MNaser S,Gajda A,Skotnicki AB,*et al*. *Infections with Van B phenotype* Enterococcus faecium *and* E. faecalis *in patients with immune deficiency during the course of hematologic neoplasms .Med Dosw Mikrobiol* 2003; **55**(1):11-24 .
23. SR Moaddab, A Rafi . Prevalence of vancomycin and high level aminoglycoside resistant enterococci among high-risk patients. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2003 Dec; 34(4) ,849-54.
24. M. Askarian, R. Afkhamzadeh, A. Monabbati, Daxboeck F,Assadian O. Risk factors for rectal colonization with vancomycin-resistant enterococci in Shiraz, Iran. Int J Infect Dis 2009 ; **12**(2) :171-5
25. Christidou A., Nikolaidis P., Skoutelis A., Kartali S,Maltezos E,Levidiotou S,*et al*. Vancomycin-resistant enterococci in Greece: a multicentre prevalence study on intestinal colonisation. 15th Europian Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Copenhagen / Danmark , April 2-5 , 2005 .
26. Matar MJ**,** Tarrand J**,** Raad I**,** Rolston KV. Colonization and infection with vancomycin-resistant *Enterococcus* among patients with cancer. *Am J Infect Control* 2006 ;34(8):534-6.
27. Sheila M.N, Jeffrey S.G, Theoklis Z,Priya P,Rettig S,Gross K, *et al*. Outbreak of vancomycin-resistant *Enterococcus* colonization among pediatric oncology patients. Infect Control Hosp Epidemiol 2009;30:338–345
28. Lesens O, Mihaila L, Robin F,Baud O,Romuszko JP,Tourniac O,*et al* . Outbreak of colonization and infection with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in a French university hospital **.** *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006 Sep**;** 27(9):984-6 .
29. Lesens O, Robin F, Corbin V, Vidal M,Sanchio AM,Julien F,*et al*. *Vancomycin-resistant* Enterococcus *in an epidemic situation: screening at admission for patients at risk of carriage. Presse Med* 2006 Aug; **35**(7-8):1167-73.