مجله پیاورد سلامت
دوره ۱۶، شماره ۳، مرداد ۱۴۰۱، ۲۰۶-۱۹۶
مقاله پژوهشی

هم‌افزایی لینزولید و ریفامپین در مبارزه با جدایه‌های محیطی انتروکوکسی مقاوم به چند دارو

مبینا نوری[۱]، لیلا فزونی[۲*]، آنیا آهنی آذری[۲]

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۲/۱۶
پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۶/۳۱

* نویسنده مسئول:
لیلا فزونی؛
واحد گرگان دانشگاه آزاد اسلامی گرگان

Email :
leila.fozouni@au.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: فاضلاب یکی از خطرناک‌ترین و مهم‌ترین منابع انتشار باکتری‌های بیماری‌زاست و تصفیه و تیمار آن‌ها همواره مؤیدحذف باکتری‌های بیماری‌زا نیست. انتروکوک‌ها به‌عنوان باکتری‌های بیماری‌زای فرصت‌طلب، سخت‌رشد و عامل عفونت‌های بیمارستانی، پراکندگی محیطی وسیعی دارند که یکی از مسیرهای انتقال آن‌ها به انسان، آب و فاضلاب می‌باشد. افزایش میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین باکتری‌ها نشان دهنده نیاز به بررسی عوامل ضدباکتریایی جدید یا اثرات ترکیبی آن‌هاست. این مطالعه با هدف بررسی اثر ترکیبی لینزولید و ریفامپین در حذف انتروکوک‌های مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک در دو پایگاه تصفیه فاضلاب استان گلستان انجام شد.

روش بررسی: گونه‌های انتروکوک از ۸۰ نمونه‌ی حاصل از پایگاه‌های تصفیه فاضلاب در دو شهر استان گلستان (شمال ایران) شامل گرگان و بندرترکمن طی بهمن ۱۳۹۹ تا تیر۱۴۰۰ جدا شدند. جدایه ها بر اساس روش‌های تعداد احتمالی باکتری‌ها، فیلتراسیون، تست‌های میکروبیولوژیک و نهایتاً با استفاده از ردیابی ژن اختصاصی توسط پرایمر ddlE با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز شناسایی شدند. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی با روش کربی بائر و طبق دستورالعمل CLSI-2020 نسبت به شش کلاس آنتی‌بیوتیکی انجام شد. تعیین حداقل غلظت لینزولید در حالت منفرد و در ترکیب با ریفامپین با روش میکرودایلوشن براث انجام شد.

یافته‌ها: پس از بررسی فنوتیپی و تشخیص مولکولی (PCR) نمونه‌های فاضلاب خام و تیمارشده، در۴۰٪ نمونه‌های فاضلاب(۳۲ نمونه) گونه‌های انتروکوک شناسایی گردیدند. تتراسایکلین کم‌اثرترین آنتی‌بیوتیک گزارش شد؛ به‌طوری‌که حدود ۱۰۰ درصد جدایه‌های *انتروکوکوس‌فکالیس* و *انتروکوکوس‌فاسیوم* به آن مقاومت نشان دادند. فراوانی *انتروکوکوس‌فکالیس* مقاوم به لینزولید ۱۱٪ تایید شد. در مجموع، ۲۰ جدایه انتروکوکی(۶۲/۵٪) دارای مقاومت چندگانه بودند. حداقل غلظت مهاری لینزولید و ریفامپین که رشد ۹۰٪ جدایه‌ها را مهار کرد(MIC_{90}) ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ٤ برابر کمتر از فرم منفرد لینزولید(٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر= MIC_{90}) بود. ضمن این‌که هیچ یک از جدایه‌های انتروکوکی به ترکیب لینزولید/ ریفامپین مقاومتی نشان ندادند(P=۰/۰۰۱).

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این تحقیق، حضور انتروکوکسی‌های مقاوم به ونکومایسین و سایر آنتی‌بیوتیک‌ها را در تصفیه‌خانه فاضلاب تایید نمود. اثر مطلوب ترکیب لینزولید و ریفامپین در مهار کامل جدایه‌های انتروکی مقاوم به چند دارو، دلالت بر هم‌افزایی آن‌ها داشت.

واژه‌های کلیدی: انتروکوک، فاضلاب، مقاومت دارویی، لینزولید، ریفامپین

۱ کارشناس‌ارشد میکروبیولوژی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

۲ استادیار گروه میکروبیولوژی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.17358132.1401.16.3.2.3]

مقدمه

فاضلاب تقریباً ۹۹/۹ درصد آب و حدود یک‌دهم درصد مواد جامد دارد. بوی بد فاضلاب اغلب به علت مواد آلی موجود در آن است که قابلیت تجزیه توسط میکروارگانیسم‌ها را دارد(۱). فاضلاب‌های شهری می‌توانند حاوی آلودگی‌های میکروبی و شیمیایی باشند؛ به‌طوری‌که ناقل بسیاری از میکروب‌های بیماری‌زا(باکتری، ویروس، قارچ، انگل) بوده و برای بهداشت عمومی مشکلات زیادی به‌وجود می‌آورند. از این‌رو سازمان بهداشت جهانی، در همکاری با سازمان غذا و دارو و برنامه محیط زیست سازمان ملل متحد دستورالعمل‌هایی را برای ایمن‌سازی فاضلاب‌ها نوشته‌اند(۳و۲).

اگرچه مهم‌ترین شاخص آلودگی فاضلاب‌ها، کلی‌فرم‌ها هستند، لیکن انتروکوک‌های مدفوعی از جمله *انتروکوکوس فکالیس* و *انتروکوکوس فاسیوم* از دیگر باکتری‌های مهم آلوده‌کننده‌ی آب و فاضلاب می‌باشند(٤). انتروکوک‌ها کوکسی‌های بی‌هوازی اختیاری گرم مثبت در زنجیره‌های کوتاه و متوسط هستند که درمان عفونت‌ها را در شرایط بیمارستانی دشوار می‌کنند. آن‌ها یکی از علل شایع عفونت‌های ادراری، باکتریمی و اندوکاردیت عفونی هستند و به‌ندرت باعث عفونت‌های داخل شکمی و منتژیت می‌شوند؛ به‌علاوه دارای مقاومت ذاتی به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها بوده و توانایی فراگیری مکانیسم‌های جدید مقاومت شامل طیف گسترده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌های گروه بتالاکتام(مانند سفالوسپورین‌ها)، آمینوگلیکوزیدها، لینکوزامیدها و گلیکوپپتیدها دارند و بر اساس گزارش‌ها، مقاومت دارویی این سویه‌ها در حال افزایش است(٦و٥)؛ به‌طوری‌که انتروکوک‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در پساب تصفیه‌خانه‌های فاضلاب(۷)، در فاضلاب‌های بیمارستان، درون‌ریزهای خام شهرداری(۹و۸) و در آب‌های سطحی یافت می‌شوند(۱۳-۱۰). گزارش‌های مبنی بر افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در انتروکوک‌ها نشان می‌دهد که در دو دهه گذشته، سویه‌های انتروکوکی مقاوم به ونکومایسین (VRE) در بیماران افزایش یافته‌اند. در تحقیقات انجام شده، حضور انتروکوک‌های با مقاومت بالا به ونکومایسین و مقاوم به چند دارو در پایگاه‌های تصفیه فاضلاب تایید شده است(۷و٦). بنابراین برای کنترل عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها، توجه محققان به آنتی‌بیوتیک‌های موثرتر و نیز درمان‌های ترکیبی با توان هم‌افزایی جلب شده است. به عنوان مثال در پژوهشی، درمان‌های ترکیبی ضدباکتریایی با اثر هم‌افزایی از جمله ریفامایسین‌ها با اگزازولیدینون‌ها موثرتر از درمان مونوتراپی گزارش شده است(١٤). ریفامپین از جمله آنتی‌بیوتیک‌هایی است که به زیر واحد β آنزیم RNA پلیمراز وابسته به DNA متصل شده و از تشکیل پیوندهای فسفودی‌استر در طی شروع الگوبرداری جلوگیری می‌کند و لینزولید یک آنتی‌بیوتیک اگزازولیدینونی است که از سنتز پروتئین باکتریایی و طویل شدن زنجیره‌های پپتیدی از طریق اتصال به rRNA ریبوزومی جلوگیری می‌کند و برعلیه بسیاری از باکتری‌های گرم مثبت از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین، استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی مقاوم به متی‌سیلین و *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به ونکومایسین موثر است(١٦و١٥).

هدف از این تحقیق علاوه بر تجزیه‌وتحلیل فراوانی مقاومت دارویی انتروکوک‌های جداشده از فاضلاب، ارزیابی نقش آب و فاضلاب به‌عنوان منبع انتشار این باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، تعیین نسبت گونه‌های انتروکوک در فاضلاب به‌عنوان منبع انتشار و همچنین مطالعه‌ی فنوتیپ‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌ها و تاثیر ضدباکتریایی ترکیب دارویی لینزولید و ریفامپین بر این سویه‌ها بوده است.

روش بررسی

- **نمونه‌برداری**

در این مطالعه‌ی مقطعی-توصیفی، ۸۰ نمونه طی بهمن ۹۹ تا تیر ۱٤۰۰ از دو پایگاه تصفیه فاضلاب واقع در استان گلستان شامل: گرگان و بندرترکمن قبل از تصفیه(پساب خام) و بعد از تصفیه جمع‌آوری شد. به‌دلیل اعمال بیشتر دقت مطالعه، نمونه‌گیری از هر تصفیه‌خانه دو بار انجام شد. در هر روز ۵ نمونه از عمق ۷۰-۵۰ سانتی‌متری فاضلاب با بطری‌های استریل با حجم ۲۵۰ سی‌سی جمع‌آوری و به فلاسک‌های یک لیتری منتقل و در مجاورت یخ به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان ارسال شده و در عرض کمتر از ۳ ساعت مورد بررسی قرار گرفتند. تحلیل‌های فیزیک و شیمیایی شامل اندازه‌گیری مقدار اکسیژن محلول، pH، کدورت و دما توسط دستگاه‌های پرتابل کالیبره در محل نمونه‌برداری و به جهت قیاس و برقراری تعادل بین نمونه‌های منتخب انجام شد.

- **جداسازی و شناسایی سویه‌های انتروکوکی**

در ابتدا فیلتراسیون حجم‌های مناسب از آب انجام شد و فیلترها بر

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.17358132.1401.16.3.2.3]

روی محیط کشت *انتروکوکوس* آگار(مرک، آلمان) گذاشته و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس به‌منظور غنی‌سازی و جداسازی انتخابی انتروکوک‌ها، هر نمونه پساب در محیط‌های BHI براث و سدیم ازید براث(مرک، آلمان) تلقیح شد و پس از ۲ ساعت گرماگذاری در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد، در محیط بلاد آگار حاوی ۵٪ خون گوسفند کشت داده شد و به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه در جار حاوی ۵٪ CO2 گرماگذاری شد. جنس انتروکوکی براساس تست‌های فنوتیپی میکروبیولوژیک از جمله رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، حساسیت به SXT، رشد بر روی سدیم از ید آگار، رشد در محلول کلرید سدیم ٦/۵٪، هیدرولیز هیپورات سدیم، متیل رد، وژزپرسکوئر، اندول، سیترات تعیین هویت شد(۱۳) و جهت تایید نهایی، پس از استخراج ژنوم باکتری از نمونه‌های مثبت با استفاده از روش جوشاندن، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با استفاده از پرایمرهای پیش‌رونده و پس‌رونده(۱۷) به‌ترتیب: '5'-CACCTGAAGAAACAGGC-3 و '5'-ATGGCTACTTCAATTTCACG-3 برای تکثیر ژن ddlE (ژن اختصاصی انتروکوک) استفاده شد. ژن ddl، دی-آلانین-دی-آلانین لیگاز که آنزیم ضروری برای بیوسنتز پپتیدوگلیکان است را کد می‌کند. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱ میکرولیتر از نمونه DNA، ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای پیش‌رونده و پس‌رونده، ۱۲ میکرولیتر 2x Master mix (حاوی ۲۰ نانومول dNTP و ۱/۵ نانومول کلرید منیزیم) ساخت کمپانی آمپلیکون، کشور دانمارک و ۱۱ میکرولیتر آب‌مقطر انجام شد. برنامه زمانی واکنش زنجیره پلی‌مراز در دستگاه ترموسایکلر(اپندورف، آلمان) با شرایط دمایی دناتوراسیون اولیه در ۹٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، در ادامه ۳۵ چرخه شامل دناتوراسیون در ۹٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، واسرشت پرایمرها در ۵۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، طول‌سازی اولیه ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه و سپس طویل‌سازی ثانویه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه صورت گرفت و محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد. سویه استاندارد *انتروکوکوس فکالیس* ATCC 29212 به‌عنوان کنترل مثبت و میکروتیوب حاوی مواد واکنش به غیر از DNA به‌عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شدند. گونه‌های انتروکوکی با تست هیدرولیز قندهای لاکتوز-اینوزیتول-گلوکز-مالتوز-مانیتول-مانوز-ریبوز-سوربیتول و سوکروز شناسایی و تایید شدند.

- **بررسی کمی و کیفی آب**

آزمایش تعداد احتمالی باکتری‌ها (MPN: Most Probable Number) از آب نیز مطابق استانداردهای موجود انجام شد(۱۸). برای این‌منظور از نمونه‌های آب در هر لوله ۱۰ سی‌سی محیط کشت نوترینت براث ریخته سپس به سه لوله اول ۱ سی‌سی، به سه لوله دوم ۰/۱ سی‌سی و به سه لوله سوم ۰/۰۱ سی‌سی نمونه تلقیح شد و پس از ٤۸-۲٤ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نتایج آن ثبت و گزارش گردید. در مراحل تاییدی و تکمیلی نمونه از لوله‌های مثبت مرحله احتمالی در محیط‌های کشت تاییدی آزید آگار و بایلاسکولین آگار کشت داده شدند. این محیط‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شده در نهایت آزمون‌های تاییدی و افتراقی گونه‌های انتروکوکسی شامل کاتالاز، تحمل نمک، رشد در محیط قلیایی، تحمل دماهای ۱۰، ٤۵ و ٦۰ درجه سانتی‌گراد و تست‌های تخمیر قند جهت تولید اسید به مرحله اجرا در آمد.

- **تعیین حساسیت دارویی**

در روش انتشار دیسک(کربی-بائر) ابتدا از جدایه‌های انتروکوکی تایید شده، کشت ۲٤ ساعته تهیه شد. از غلظت برابر نیم مک‌فارلند باکتری‌ها بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت یکنواخت و دیسک‌گذاری انجام شد. برای انجام این تست از دیسک‌های لینزولید (LZD10، ماست، انگلیس)، ایمی‌پنم (IPM10)، تتراسایکلین (TE30)، ریفامپین (RA30)، ونکومایسین (V30) و لووفلوکساسین (Lev5) خریداری شده از شرکت پادتن طب ایران استفاده شد. پس از انکوباسیون محیط‌ها به‌مدت ۱۸-۱٦ ساعت در حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد، هاله‌ی عدم‌رشد اطراف هریک از دیسک‌ها اندازه‌گیری شد و با توجه به جدول استاندارد CLSI-M100 به سه دسته‌ی مقاوم، نیمه‌حساس و حساس دسته‌بندی شدند(۱۹)، از *انتروکوکوس فکالیس* ATCC 10541 به‌عنوان سویه کنترل در تعیین حساسیت دارویی استفاده شد.

- **تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی لینزولید و ریفامپین**

به‌منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) لینزولید به‌تنهایی و در ترکیب با ریفامپین از روش میکرودایلوشن براث استفاده شد. جهت تهیه سوسپانسیون دارویی، مقادیر لازم از پودر آنتی‌بیوتیک‌های لینزولید و ریفامپین(سیگما- آلدریچ، آمریکا) به‌ترتیب به حلال آب و متانول اضافه

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.17358132.1401.16.3.2.3]

گردیدند. غلظت اولیه آنتی‌بیوتیک لینزولید در حالت منفرد به میزان ۱۰۰ میکرولیتر و در فرم ترکیبی به نسبت ۵۰-۵۰ با ریفامپین(با حجم نهایی ۱۰۰ میکرولیتر) به میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای الایزا حاوی محیط کشت مولر هینتون براث با ۲ درصد نمک(مرک، آلمان) تلقیح شد. عمل رقیق‌سازی استوک‌های دارویی برای حصول رقت‌های ۶۴-۰/۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر انجام شد. چاهک‌های حاوی استوک دارو و سوسپانسیون باکتری به‌ترتیب کنترل منفی و کنترل مثبت در نظر گرفته شد. پس از تلقیح سوسپانسیون باکتری با غلظت $1/5\times10^8$ واحد تشکیل‌دهنده‌ی کلنی، میکروپلیت‌ها یک شبانه‌روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. حداقل غلظت دارویی ضدباکتریایی که به میزان ۹۰٪ مانع از رشد باکتری در مقایسه با چاهک کنترل مثبت شده باشد به‌عنوان MIC_{90} تلقی شد. گزارش MIC بر مبنای بررسی چشمی با ذره‌بین و جذب در ۶۳۰ نانومتر در الایزا ریدر(بیوتک، آلمان) انجام گردید و با جداول استاندارد CLSI- M100 تطبیق داده شد(۱۹).

- **تحلیل داده‌ها**

پس از حصول نتایج مرتبط با آلودگی فاضلاب‌های در دست بررسی و شناسایی گونه‌های انتروکوکسی ایزوله شده با ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها و ثبت گونه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، یافته‌ها در قالب جداول فراوانی نمودار و شاخص‌های عددی ارایه گردید. کلیه اعداد با استفاده از نرم‌افزار SPSS با استفاده از میانگین‌های توصیفی و انحراف‌معیار و همچنین با آزمون‌های آماری آنالیز واریانس تجزیه‌وتحلیل گردید. پارامترهای کمی بین گروه‌ها با استفاده از تست T مقایسه گردید. نمودارها با نرم‌افزار Excel 2010 رسم شدند و نتایج در سطح معنی‌دار $p<0/01$ بررسی شد.

یافته‌ها

- **نتایج ارزیابی نمونه‌های فاضلاب قبل و بعد از تصفیه از دو ایستگاه موردمطالعه**

پس از بررسی فنوتیپی و تشخیص مولکولی (PCR) از ۸۰ نمونه فاضلاب خام و تیمارشده، در ۳۲ نمونه(۴۰٪) رشد گونه‌های انتروکوکسی مثبت ارزیابی گردید. حضور قطعات ۶۹۰ جفت بازی در مقایسه با DNA مارکر دال بر محرز بودن جدایه‌ها در حد جنس *انتروکوکوس* بود(شکل ۱). از مجموع جدایه‌های انتروکوکی از فاضلاب، بیشترین و کمترین فراوانی به‌ترتیب متعلق به *انتروکوکوس فکالیس* ۲۸(۸۷/۵٪) و *انتروکوکوس فاسیوم* ۴(۱۲/۵٪) بوده است که از هر دو مرکز گرگان و بندرترکمن جداسازی شد.

جدول ۱: شمارش گونه‌های انتروکوکی جدا شده از فاضلاب به‌روش MPN

MPN (۱۰۰ سی‌سی)/ شماره نمونه	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
انتروکوکوس فکالیس	۲	۲	۲	۱	۲	۲	۱	۲
انتروکوکوس فاسیوم	۲	۰	۰	۰	۲	۰	۰	۰

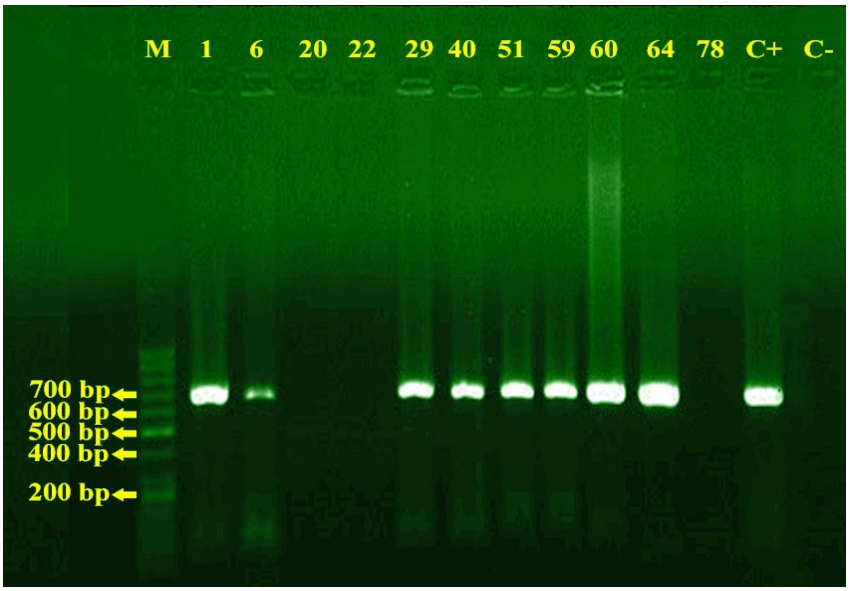
نتایج شمارش با استفاده از متد MPN برای ۲۸ سویه *انتروکوکوس فکالیس* در نمونه‌های پساب نیز دلالت بر آلودگی داشته است(جدول ۱). این گونه‌ی انتروکوکی در ۱۹ مورد(۶۷/۹٪) از نمونه‌های پساب خام قبل از فرایند تصفیه و در ۹ مورد دیگر(۳۲/۱٪)، از پساب تصفیه‌شده‌ی حوضچه‌های انتهایی تصفیه‌خانه‌ها، ایزوله گردیدند. بر اساس نوع پساب نمونه‌برداری شده از مراکز اخذ نمونه‌گیری‌شده نتیجه‌گیری می‌شود که *انتروکوکوس فکالیس* در تمامی نمونه‌های خام و تصفیه‌شده جدا گردیده است. بدین‌ترتیب پساب‌های خام نیز در هر دو مرکز، آلایندگی انتروکوکی بیشتری در مقایسه با پساب تصفیه‌شده داشته است.

- **نتایج ارزیابی تعیین حساسیت دارویی**

بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی را جدایه‌های *انتروکوکوس فکالیس* به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین ۲۸(۱۰۰٪) و بیشترین حساسیت را نسبت به آنتی‌بیوتیک لینزولید ۲۵(۸۹/۳٪) نشان دادند(P-Value=۰/۲۵۸). جدایه‌های *انتروکوکوس فاسیوم* با نرخ ۱۰۰٪ مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و ایمی‌پنم و با میزان ۱۰۰٪ و ۶۵٪ به‌ترتیب به آنتی‌بیوتیک لینزولید و ونکومایسین حساسیت نشان دادند(P-Value=۰/۳۴۹، جدول ۲). در مجموع، ۲۰ جدایه انتروکوکی(۶۲/۵٪) دارای مقاومت چندگانه بوده و ۱۲ جدایه(۳۷/۵٪) به کمتر از سه کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاوم بودند.

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.17358132.1401.16.3.2.3]



شکل ۱: تکثیر ژن ddlE جنس *انتروکوکوس*؛ به‌ترتیب از چپ به راست: مارکر bp ۱۰۰، نمونه‌های مثبت واجد ژن اختصاصی: ۶۴، ۶۰، ۵۹، ۵۱، ۴۰، ۲۹، ۶، ۱؛ C+ و C-: کنترل مثبت و کنترل منفی

جدول ۲: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های انتروکوکی پساب دو مرکزِ بررسی شده

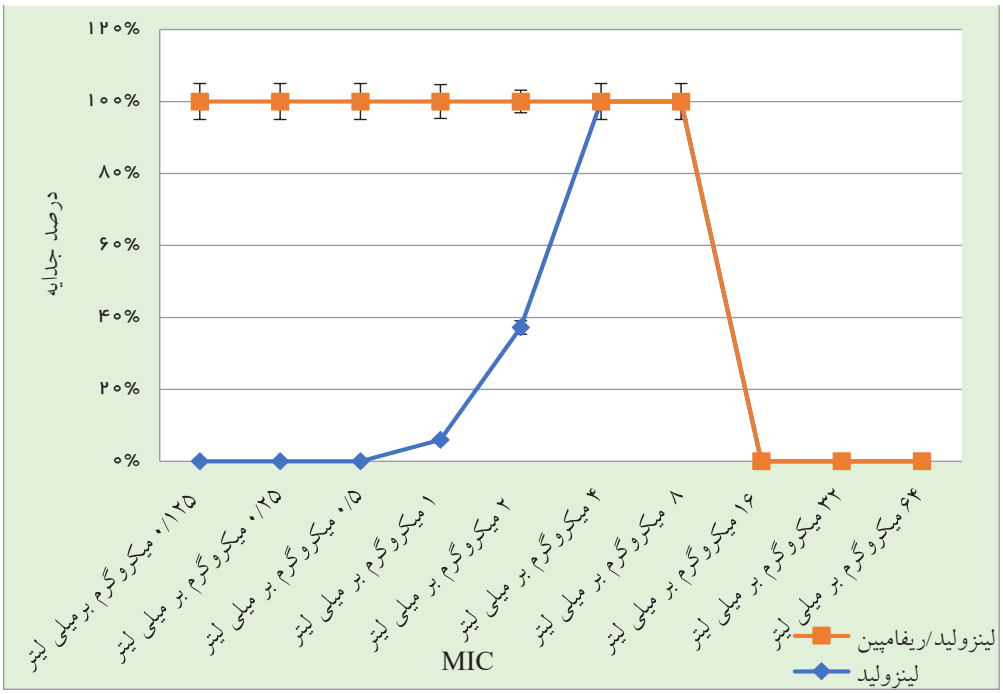
نمونه فاضلاب	شماره	انتروکوک‌ها	آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی						حساسیت/ مقاومت انتروکوک‌ها(درصد)		
			LZD	IPM	TE	LEV	RA	V	S	I	R
گرگان(خام)	۱	*انتروکوکوس فکالیس*	R	R	R	S	R	R	۱۰/۷۰	۰	۸۹/۳۰
گرگان(خام)	۲	*انتروکوکوس فاسیوم*	S	R	R	S	S	S	٤٥/۰۰	۲۱/۳۰	۳۳/۷۰
گرگان(تصفیه)	۳	*انتروکوکوس فکالیس*	S	R	R	S	R	R	۲۱/۷۰	۰	۳۰/۷۸
گرگان(تصفیه)	٤	*انتروکوکوس فاسیوم*	S	R	S	S	I	I	۲۹/۱۰	٦۰/۱٥	۷٥/۱۰
بندرترکمن(خام)	٥	*انتروکوکوس فکالیس*	R	R	R	S	R	S	٤۲	۰	٥۸
بندرترکمن(خام)	٦	*انتروکوکوس فاسیوم*	S	S	S	S	R	S	۹۰	۰	۱۰
بندرترکمن(تصفیه)	۷	*انتروکوکوس فکالیس*	S	R	R	R	R	R	۱۰	۰	۹۰
بندرترکمن(تصفیه)	۸	*انتروکوکوس فاسیوم*	S	R	R	R	R	R	٥	۰	۹٥
پتانسیل بازدارندگی آنتی‌بیوتیکی(درصد)		S	۸۷/٥۰	٥۰	۲۰	۸۱	٥۷	٦٥			
		I	۰	۰	۹	۰	۷	۲			
		R	۱۲/٥۰	٥۰	۷۱	۱۹	۱۸	۳۳			

S: حساس، R: مقاوم، I: حدوسط، LZD: لینزولید، IPM: ایمی‌پنم، TE: تتراسایکلین، LEV: لووفلوکساسین، RA: ریفامپین، V: ونکومایسین

- **نتایج حداقل غلظت مهاری لینزولید به‌تنهایی و در ترکیب با ریفامپین**

پراکندگی معیار MIC لینزولید به‌تنهایی نشان داد که بیشترین اثر مهاری برعلیه جدایه‌های انتروکوکی در غلظت‌های ۲ و ٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر با فراوانی ۳۷/۵٪ بوده است. درحالی‌که در فرم ترکیبی لینزولید/ریفامپین در غلظت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر با فراوانی ۳۷/۵ درصد بیشترین اثر مهاری بر روی جدایه‌های انتروکوکی مشاهده شد. ضمن این‌که هیچ‌یک از جدایه‌های انتروکوکی به ترکیب لینزولید/ ریفامپین مقاومتی نشان ندادند.

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-11]
[DOR: 20.1001.1.17358132.1401.16.3.2.3]



شکل ۲: توزیع فراوانی حداقل غلظت مهاری ترکیب لینزولید/ ریفامپین و لینزولید به تنهایی بر جدایه‌های انتروکوکی

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی لینزولید نشان داد که ۱۲/۵٪ سویه‌ها به لینزولید ($MIC \geq 8\ \mu g/\mu l$) و ۱۸٪ به ریفامپین ($MIC \geq 4\ \mu g/\mu l$) مقاومت داشته‌اند. حداقل غلظت مهارکنندگی لینزولید و ریفامپین که رشد ۹۰٪ جدایه‌ها را مهار کرد(MIC_{90}) ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که ٤ برابر کمتر از فرم منفرد لینزولید(میکروگرم بر میلی‌لیتر MIC_{90}=٤) بود. همان‌طورکه در شکل ۲ مشاهده می‌شود، در فرم ترکیبی لینزولید/ ریفامپین میزان حداقل غلظت مهاری در مقایسه با فرم منفرد کاهش داشته که نشان‌دهنده‌ی هم‌افزایی این دو آنتی‌بیوتیک بوده است.

جدول ۳ : تاثیر و مقایسه اثر ضدباکتریایی لینزولید به‌تنهایی و در ترکیب با ریفامپین بر رشد جدایه‌های انتروکوک

عوامل ضدباکتریایی/ جدایه‌های انتروکوکی		میانگین± انحراف معیار	F	P-Value
لینزولید	*انتروکوکوس فکالیس*	۲/۰۰±۱٦	۱/۰۲	۰/۰۲
	انتروکوکوس فاسیوم	۳/۹۰±۸	۱/۸۷	
لینزولید+ ریفامپین	*انتروکوکوس فکالیس*	۰/۵۰±٤	۲/۳۸	۰/۰۰۱
	انتروکوکوس فاسیوم	۰/۰۰±۲	۲/۸٦	

میانگین و انحراف‌معیار فرم ترکیبی لینزولید و ریفامپین بیان می‌نماید که مجموع اثر این دو آنتی‌بیوتیک در مهار جدایه‌های انتروکوکی موثر بوده است و تفاوت معنی‌داری در میزان قدرت مهاری فرم ترکیبی نسبت به فرم منفرد لینزولید دیده شد(P=۰/۰۰۱، جدول ۳).

بحث

وجود فاکتورهای بیماری‌زایی مختلف و مقاومت آنتی‌بیوتیکی انتروکوک‌ها از جمله عوامل مهم مخاطره‌آمیز برای سلامت انسان‌ها می‌باشد که اهمیت بررسی این باکتری‌ها را افزایش می‌دهد. انتروکوک‌ها پس از استافیلوکوک‌ها، در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی، باکتریمی و اندوکاردیت مرتبط با بیمارستان رتبه‌ی دوم را دارند. انتروکوک‌ها سومین علت شایع اندوکاردیت اکتسابی از جامعه در آمریکای شمالی، بعد از *استافیلوکوکوس اورئوس* و استرپتوکوکوس ویریدانس می‌باشند(۲۰). در بین گونه‌های مطرح انتروکوکی، *انتروکوکوس فکالیس* در ایجاد عفونت‌های انتروکوکی نقش پررنگ‌تری دارد. لیکن *انتروکوکوس فاسیوم* توانایی بالایی در کسب انواع ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی داشته و مقاومت محیطی بیشتری دارد. در پژوهش‌های مختلف انجام شده در اغلب مناطق دنیا، شیوع و فراوانی *انتروکوکوس فکالیس* بیشتر از *انتروکوکوس فاسیوم* بوده است(۲۱). در مطالعه‌ی حاضر از مجموع ۳۲(٤۰٪) سویه‌های انتروکوکی شناسایی شده،

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-11]
[DOR: 20.1001.1.17358132.1401.16.3.2.3]

انتروکوکوس فکالیس با نرخ ۸۷/۵ درصد فراوان‌ترین گونه‌ی انتروکوکی گزارش شد. نتایج مطالعات بسیاری نشان‌دهنده‌ی فراوانی گونه‌های *انتروکوکوس فکالیس* نسبت به سایر گونه‌های جداشده از فاضلاب است. در مطالعه‌ی انجام‌شده توسط عنایتی‌مقدم و همکاران در سال ۲۰۲۰ از مجموع جدایه‌های نمونه فاضلاب خام و تصفیه‌شده، *انتروکوکوس فکالیس* با فراوانی ۷۰/٦ درصد بیشترین نرخ را در مقایسه با جدایه‌های انتروکوس فاسیوم و *انتروکوکوس* اسینی نشان داد(۷). مطالعات انجام شده در آفریقای جنوبی در سال‌های ۲۰۱۵(۲۲) و ۲۰۲۱(۲۳) و در کانادا در سال ۲۰۲۰(۲٤) نیز بیشترین جدایه انتروکوکی را *انتروکوکوس فکالیس* گزارش کردند.

گزارش‌هایی مغایر با نتایج مطالعات فوق از نظر نوع سویه غالب نیز وجود دارد. نتایج مطالعه محققان ایرانی در سال ۱۳۹٦ نشان داد که از مجموع ۸٤ جدایه انتروکوکی از سبزی خشک، *انتروکوکوس فاسیوم* با نرخ ٦۱(۷۲/٦٪) فراوان‌ترین گونه در مقایسه با گونه‌های جداشده‌ی: *انتروکوکوس* دورانس، *انتروکوکوس فکالیس* و *انتروکوکوس* اویوم بوده است(۲۵). نتایج مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۲ در سوئد نیز حاکی از فراوانی بیشتر *انتروکوکوس فاسیوم*(٦۹٪) در فاضلابهای بیمارستانی بوده است(۸). در هرحال فاضلاب‌ها به‌عنوان مهم‌ترین منابع ورود این باکتری‌های پاتوژن و انتقال مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی به محیط‌های آبی ثبت شده‌اند و فرایندهای متداول تصفیه‌ی فاضلاب نمی‌توانند این میکروآلاینده‌ها و باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها را حذف کند که قطعاً پژوهش‌های منظم و دوره‌ای حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های میکروبی و بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌تواند در انتخاب یک داروی مناسب و موثر جهت درمان بیماری‌ها و کنترل اشاعه‌ی این پاتوژن‌ها موثر باشد(۲٦و۷). توانایی انتروکوک‌ها در ایجاد مقاومت به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها و نیز قدرت انتقال این مقاومت به سایر میکروارگانیسم‌ها و نقش آن‌ها به‌عنوان مخزن منتشرکننده‌ی مقاومت، اهمیت این باکتری‌ها را دو چندان کرده است. در سال‌های اخیر ونکومایسین به‌عنوان یک آنتی‌بیوتیک موثر در حذف باکتری‌های گرم مثبت بسیار موردتوجه بوده است، لیکن استفاده‌ی بیش از اندازه از این آنتی‌بیوتیک در درمان عفونت‌های انتروکوکی و تجویز آن در درمان عفونت‌های ایجادشده توسط باکتری‌های دیگر موجب مقاومت روزافزون باکتری‌ها به این دارو شده است(۲٦-۲۳). نتایج مطالعه‌ای در ایران در سال ۱۳۹۵ نشان داد که در مجموع، ۹۲ جدایه‌ی انتروکوکی مقاوم به ونکومایسین شامل *انتروکوکوس فاسیوم*(۸۰٪) *انتروکوکوس فکالیس*(۱۷٪) و *انتروکوکوس گالیناروم*(۳٪) از فاضلاب‌های بیمارستانی جمع‌آوری شدند(۲۷).

در مطالعه‌ی حاضر، جدایه‌های *انتروکوکوس فکالیس* مقاومت دارویی بیشتری در مقایسه با جدایه‌های *انتروکوکوس فاسیوم* نشان دادند؛ به‌طوری‌که ۲۵ درصد سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* دارای مقاومت به ونکومایسین بوده لیکن ۸ درصد جدایه‌های *انتروکوکوس فاسیوم* به این آنتی‌بیوتیک حساسیت نشان دادند و از مجموع ۲۰(٦۲/۵٪) جدایه انتروکوکی دارای مقاومت چندگانه ۱۹ مورد(۹۵٪) متعلق به گونه‌ی فکالیس بوده است. البته با توجه به فراوانی کمتر *انتروکوکوس فاسیوم* در مقایسه با *انتروکوکوس فکالیس* نمی‌توان مقایسه‌ی صحیحی از جهت فراوانی مقاومت دارویی این جدایه‌ها داشت. در پژوهش انجام شده در ایران در سال ۲۰۲۰ حدود ٤۷ درصد سویه‌های *انتروکوکوس فکالیس* جدا شده از پایگاه‌های فاضلاب، مقاوم به ونکومایسین گزارش شدند که بیشتر از نرخ مقاومت ۳۳ درصدی در مطالعه‌ی حاضر بوده است که احتمالاً دلیل این اختلاف فراوانی، زمان انجام مطالعه‌ی قبلی پس از وقوع سیل آق‌قلا در استان گلستان بوده است(۷). باتوجه به افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های انتخابی و کلاس‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی، معرفی و بررسی آنتی‌بیوتیک‌های موثرتر یا استفاده‌ی ترکیبی از داروها به‌عنوان یکی از راه‌های غلبه بر معضل مقاومت آنتی‌بیوتیکی مدنظر قرار گرفته است(۲۸). در مطالعه‌ی حاضر ضمن بررسی الگوی حساسیت دارویی لینزولید، اثر ترکیبی آن با ریفامپین نیز بررسی گردید. به‌طوری‌که حدود ۱۲/۵ درصد جدایه های *انتروکوکوس فکالیس* به لینزولید مقاومت نشان دادند ولی با توجه به کاهش میزان حداقل غلظت مهاری ترکیب لینزولید/ ریفامپین نسبت به فرم منفرد لینزولید، هم‌افزایی این دو آنتی‌بیوتیک و اثر صد درصدی فرم ترکیبی آن در کنترل این جدایه‌ها تایید شد. نتایج مطالعه صورت‌گرفته توسط Holmberg و همکاران نشان داد که ترکیب سیپروفلوکساسین یا لینزولید با ریفامپیسین تاثیر خوبی در مهار بیوفیلم‌های *انتروکوکوس فکالیس* محیطی داشتند(۲۹). مطالعه‌ی انجام شده توسط Yu و همکاران در سال ۲۰۲۰ نشان داد که آنتی‌بیوتیک‌های فسفومایسین، ونکومایسین و داپتومایسین به‌صورت ترکیبی بر علیه *انتروکوکوس فکالیس* مقاوم به لینزولید اثر مهاری بهتری نسبت به حالت منفرد دارند(۳۰). همچنین Yan و همکاران در سال ۲۰۱۸(۳۱) درمان ترکیبی اریتاوانسین با ریفامپین یا لینزولید را به‌عنوان یک گزینه‌ی موثر برای درمان عفونت‌های ناشی از سویه‌های

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.17358132.1401.16.3.2.3]

استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین عنوان کردند. علاوه بر تحقیقات در خصوص اثرات موثر هم‌افزایی دارویی در کنترل عفونت ها(۳۲)، محققان در ایران اثرات ضدباکتریایی محلول رویی کشت *استافیلوکوکوس اورئوس* متاثر از سیپروفلوکساسین را بر روی جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین تایید نموده‌اند(۳۳) که نوید بخش راه‌حل‌های تکمیلی در درمان است.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی یافته‌های ما نشان‌دهنده‌ی وجود انتروکوک‌های مقاوم به چند دارو و میزان نسبتاً بالای مقاومت به وانکومایسین در نمونه‌های تصفیه‌شده‌ی فاضلاب استان گلستان است. بنابراین، توسعه‌ی سیستم‌های تصفیه فاضلاب کاملاً مجهز که قادر به حذف این سویه‌ها باشد، برای جلوگیری از توزیع ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در محیط، ضروری است. مشابه یافته‌های بررسی شده، نتایج ما نشان می‌دهد که فاضلاب را می‌توان به‌عنوان یکی از عوامل اصلی آلودگی‌های محیطی در نظر گرفت. بنابراین، نیاز به پایش مداوم و هم‌زمان نمونه‌های محیطی و بالینی برای ارزیابی الگوهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی وجود دارد. علاوه بر این، اقدامات کنترلی مناسب برای جلوگیری از گسترش ایزوله‌های مقاوم به لینزولید در درمان آنتی‌بیوتیکی باید انجام شود. در مطالعه‌ی حاضر، اثرات هم‌افزایی لینزولید و ریفامپین در غلظت‌های یکسان دورنمای موثری را در کنترل انتشار انتروکوک‌های مقاوم به دارو، منتقل شده از فاضلاب نشان داد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد با عنوان«بررسی فعالیت ضدباکتریایی لینزولید در ترکیب با ریفامپین بر سویه‌های انتروکوکی مقاوم به چند دارو جدا شده از نمونه فاضلاب» بوده و ضمن رعایت اخلاق پژوهش، در دانشگاه آزاداسلامی مازندران بررسی و با شناسه اخلاق (IR.IAU.CHALUS.REC.1400.092) مصوب گردیده است. نویسندگان این مقاله مراتب تشکر خود را از تمام کسانی که در این پژوهش همکاری کردند و همچنین پرسنل آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد گرگان اعلام می‌دارند.

References

1. Rosenberg Goldstein RE, Micallef SA, Gibbs SG, 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. Science of the Total Environment 2014; 466-467: 404-11.

2. Carey SA, Rosenberg Goldstein RE, Gibbs SG, Claye E, He X & Sapkota AR. Occurrence of vancomycin-resistant and -susceptible Enterococcus spp. in reclaimed water used for spray irrigation. Environmental Research 2016; 147(1): 350-5.

3. Hayakawa K, Marchaim D, Martin ET, Tiwari N, Yousuf A, Sunkara B, et al. Comparison of the clinical characteristics and outcomes associated with vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* and vancomycin-resistant E. Faecium Bacteremia. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2012; 56(5): 2452-8.

4. Young S, Nayak B, Sun S, Badgley BD, Rohr JR & Harwood VJ. Vancomycin-resistant enterococci and bacterial community structure following sewage spill into an aquatic environment. Applied and Environmental Microbiology 2016; 82(18): 5653-60.

5. Zhen X, Lundborg CS, Sun X, Hu X & Dong H. Economic burden of antibiotic resistance in ESKAPE organisms: A systematic review. Antimicrobial Resistance and Infection Control 2019; 8(137): 1-23.

6. Selleck EM, Tyne DV & Gilmore MS. Pathogenicity of enterococci. Microbiology Spectrum 2019; 7(4): 1-38.

7. Enayati Moghaddam N, Fozouni L & Ahani Azari A. Gold nanoparticles: An offer to control of vancomycin-resistant enterococci in wastewater. Journal of Advances in Environmental Health Research 2020; 8(3): 198-200.

8. Iversen A, Kuhn I, Franklin A & Mollby R. High prevalence of vancomycin-resistant enterococci in Swedish sewage. Applied and Environmental Microbiology 2002; 68(6): 2838-42.

9. Ryu H, Henson M, Elk M, Toledo-Hernandez C, Griffith J, Blackwood D, et al. Development of quantitative PCR assays targeting the 16S rRNA genes of Enterococcus spp. and their application to the identification of enterococcus species in environmental samples. Applied and Environmental Microbiology 2013; 79(1): 196-204.

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.17358132.1401.16.3.2.3]

10. Ben-Salah D, Besbes M, Boutiba I, Greco A, Ghozzi R, Mahjoubi F, et al. *Enterococcus faecalis*: A multicenter study on antibiotic resistance. La Tunisia Medical 2003; 81(2): 109-12.

11. Borhani K, Ahmadi A, Rahimi F, Pourshafie MR & Talebi M. Determination of vancomycin resistant *Enterococcus faecium* diversity in Tehran sewage using plasmid profile, biochemical fingerprinting and antibiotic resistance. Jundishapur Journal of Microbiology 2014; 7(2): e8951.

12. Bouki C, Venieri D & Diamadopoulos E. Detection and fate of antibiotic resistant bacteria in wastewater treatment plants: A review. Ecotoxicology and Environmental Safety 2013; 91(1): 1-9.

13. Tille PM. Bailey and scott's diagnostic microbiology. 13th ed. USA: Mosby Company; 2013: 631-57.

14. Okazaki F, Tsuji Y, Seto Y, Ogami C, Yamamoto Y & To H. Effects of a rifampicin pre-treatment on linezolid pharmacokinetics. PLoS One 2019; 14(9): e0214037.

15. Xie N, Jiang L, Chen M, Zhang G, Liu Y, Li J, et al. In vitro and in vivo antibacterial activity of linezolid plus fosfomycin against staphylococcus aureus with resistance to one drug. Infection and Drug Resistance 2021; 14(1): 639-49.

16. Locke JB, Zuill DE, Scharn CR, Deane J, Sahm DF, Denys GA, et al. Linezolid-resistant Staphylococcus aureus strain 1128105, the first known clinical isolate possessing the CFR multidrug resistance gene. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2014; 58(11): 6592-8.

17. Erbas G, Parin U, Turkyilmaz S, Ucan N, Ozturk M & Kaya O. Distribution of antibiotic resistance genes in spp. Isolated from mastitis bovine milk. Acta Veterinaria 2016; 66(3): 336-46.

18. Clesceri LS, Greenberg AE & Eaton AD. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th ed. USA: American Public Health Association; 1999: 111-32.

19. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing M100 30thed. Available at: https://clsi.org/media/3481/m100ed30_sample.pdf. 2020.

20. Fernandez-Hidalgo N & Escola-Vergw L. *Enterococcus faecalis* bacteremia: Consider an echocardiography, but consult an infectious diseases specialist. Journal of the American College of Cardiology 2019; 74(2): 202-4.

21. Kariyama R, Mitsuhata R, Chow JW, Clewell DB & Kumon H. Simple and reliable multiplex PCR assay for surveillance isolates of vancomycin-resistant enterococci. Journal of Clinical Microbiology 2000; 38(8): 3092-5.

22. Chuks Iweriebr B, Gaqavu S, Chikwelu-Obi L, Nwodo U & Okoh A. Antibiotic susceptibilities of enterococcus species isolated from hospital and domestic wastewater effluents in alice, eastern cape province of south Africa. International Journal of Environmental Research and Public Health 2015; 12(4): 4231-46.

23. Mbanga J, Amoako D, Abia A, Allam M, Ismail A & Essack S. Genomic analysis of Enterococcus spp. Isolated from a wastewater treatment plant and its associated waters in uMgungundlovu district, south Africa. Frontiers in Microbiology 2021; 12(1): 1-13.

24. Sanderson H, Ortega-Polo R, Zaheer R, Goji N, Amoako K, Brown RS, et al. Comparative genomics of multidrug-resistant Enterococcus spp. Isolated from wastewater treatment plants. BMC Microbiology 2020; 20(20): 1-17.

25. Abbaspour M, Rajabi Z, Soltan-Dallal MM & Yazdani A. Prevalence and antibiotic resistance of Enterococci species isolated from packed and unpacked dried vegetables distributed in Tehran. Razi Journal of Medical Sciences 2017; 24(159): 21-9[Article in Persian].

26. Udo EE, Al-Sweih N, John P, Jacob LE & Mohanakrishnan S. Characterization of high-level aminoglycoside resistant enterococci in Kuwait hospitals. Microbial Drug Resistance 2004; 10(2): 139-45.

27. Rahimi F, Torabi M & Barahoei N. Isolation of vancomycin resistant enterococci from hospital sewage in Tehran 2016. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine 2019; 23(83): 47-53[Article in Persian].

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.17358132.1401.16.3.2.3]

28. Rahimi F, Sefi M, Pourshafi MR, Eshraghian MR, Soltan-Dallal MM & Pourmand MR. Investigation of clonality among high level gentamicin resistant E. Faecalis and E. faecium isolated from sewage treatment plants in Tehran. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences 2008; 13(3): 70-82[Article in Persian].

29. Holmberg A, Morgelin M & Rasmussen M. Effectiveness of ciprofloxacin or linezolid in combination with rifampicin against *Enterococcus faecalis* in biofilms. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2012; 67(2): 433-9.

30. Yu W, Zhang J, Tong J, Zhang L, Zhan Y, Huang Y, et al. In Vitro antimicrobial activity of fosfomycin, vancomycin and daptomycin alone, and in combination, against linezolid-resistant *Enterococcus faecalis*. Infectious Diseases and Therapy 2020; 9(1): 927-34.

31. Yan Q, Karau M, Raval Y & Pate R. Evaluation of oritavancin combinations with rifampin, gentamicin, or linezolid against prosthetic joint infection-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus biofilms by time-kill assays. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2018; 62(10): e00943-18.

32. Zhou YF, Tao MT, Feng Y, Yang RS, Liao XP, Liu YH, et al. Increased activity of colistin in combination with amikacin against Escherichia coli co-producing NDM-5 and MCR-1. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2017; 72(6): 1723-30.

33. Rahimkhani M & Mordadi AR. Survey of the lethal effect of ciprofloxacin and supernatant isolated from Staphylococcus aureus under the stress of ciprofloxacin on methicillin-resistant staphylococcus aureus strains isolated from clinical specimens. Journal of Payavard Salamat 2022; 15(6): 578-84[Article in Persian].

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.17358132.1401.16.3.2.3]

Journal of Payavard Salamat
Vol. 16, No. 3, Aug 2022

Synergism of Linezolid and Rifampin to Combat Multidrug-Resistant Environmental Enterococci Isolates

Mobina Noori[1] (M.S.), Leila Fozouni[2]* (Ph.D.), Ania Ahani Azari[2] (Ph.D.)

1 Master of Science in Microbiology, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran
2 Assistant Professor, Department of Microbiology, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran

Abstract

Received: 6 May. 2022
Accepted: 22 Sep. 2022

Background and Aim: Wastewater is one of the most dangerous and important sources of pathogens and their treatment does not always guarantee the elimination of pathogenic bacteria. Enterococci, as opportunistic pathogenic bacteria, fastidious and cause of nosocomial infections, have a wide environmental distribution and one of the routes of their transmission to humans is water and wastewater. The increasing rate of drug- resistance among bacteria indicates the need for investigation of novel antibacterial agents or their combination effects. The aim of this study was to investigate the effect of linezolid in combination with rifampin on the elimination of multidrug-resistant enterococci in two treatment plants in Golestan province.

Materials and Methods: Enterococcus species from eighty samples were isolated from treatment plants in two cities of the Golestan Province (North of Iran) including Gorgan and Bandar-e Torkaman during January-June 2021. The isolates were identified based on the most probable number (MPN), filtration, microbiological tests and finally by using specific gene detection by ddlE primer with polymerase chain reaction. Kirby Bauer performed an antibiotic resistance pattern according to CLSI- 2020 guidelines for six classes of antibiotics. The minimum inhibitory concentration of linezolid was determined individually and by synergist effect with rifampin by broth microdilution method.

Results: After phenotypic and molecular diagnosis (PCR) of raw and treated wastewater samples, in 32 (40%) wastewater samples, enterococci species were identified and confirmed. Tetracycline was the least effective so, about 100% of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates were resistant to it. The prevalence of linezolid-resistant E. faecalis was 11%. A total of 20 enterococcal isolates (62.5%) had multiple resistance. The concentration of linezolid in combination with rifampin, which inhibited 90% growth of the isolates (MIC_{90}) was 1µg /ml, four-fold lower than linezolid alone (MIC_{90}=4 µg/ml). In addition, none of the enterococci isolates showed resistance to the linezolid/rifampin combination (P=0.001).

Conclusion: The results of this research confirmed the presence of enterococci resistant to vancomycin and other antibiotics in the wastewater treatment plant samples in Golestan province. The favorable combination effect of linezolid and rifampin on the inhibition of multi-drug resistant isolates implies their synergy.

Keywords: Enterococci, Wastewater, Drug Resistance, Linezolid, Rifampin

*** Corresponding Author:**
Fozouni L
Email:
leila.fozouni@au.ac.ir

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.17358132.1401.16.3.2.3]

Copyright © 2022 the Authors. Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).
Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.