دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال هفدهم، شماره ۵، صفحه ۹۱۵ – ۹۰۷ (آذر و دی ۱۳۹۳)

ISMJ 2014;17(5): 907-915

جداسازی و تعیین پروفایل حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های انتروباکتر کلوآکه جداشده از شیرهای خشک مصرفی در بخش مراقبت‌های ویژه نوزادان

جلال مردانه [۱]، محمدمهدی سلطان دلال [۲و۳*]، مهرناز طاهری‌پور [۴]

[۱]مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی بالینی استاد البرزی، بیمارستان نمازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز
[۲]مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۳]بخش باکتری‌شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۴]دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات اراک

(دریافت مقاله: ۹۲/۲/۱۴- پذیرش مقاله: ۹۲/۴/۹)

چکیده

زمینه: باکتری انتروباکتر کلوآکه باسیلی گرم منفی، متحرک و عضوی از خانواده انتروباکتریاسه است. این ارگانیسم، پاتوژنی فرصت‌طلب و مهم محسوب می‌شود و در گیاهان و انسان‌ها به‌ویژه افراد دارای نقص سیستم ایمنی و نوزادان نارس و در تمام گروه‌های سنی ایجاد بیماری می‌نماید. هدف از این مطالعه جداسازی سویه‌های انتروباکتر کلوآکه از شیرهای خشک مصرفی نوزادان بستری در NICU و تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی این ایزوله‌ها بوده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی تعداد ۱۲۵ نمونه پودر شیر خشک که جهت تغذیه نوزادان در بخش مراقبت‌های ویژه نوزادان (NICU) بیمارستان‌ها استفاده می‌شود، مورد بررسی قرار گرفته‌اند. جداسازی و شناسایی میکروارگانیسم بر اساس استاندارد FDA (FDA Method) انجام شد. تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جدا شده با روش استاندارد دیسک دیفیوژن بر اساس دستورالعمل پیشنهادی سازمان استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI 2011) صورت پذیرفت.

یافته‌ها: نتایج این بررسی نشان داد از ۱۲۵ نمونه پودر شیر خشک مورد بررسی ۲ نمونه (۱/۶ درصد) از نظر آلودگی به انتروباکتر کلوآکه مثبت بودند. سویه‌های ایزوله شده به بیشتر آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در بالین حساس بودند، اما همه به آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین مقاوم بودند.

نتیجه‌گیری: از آنجایی که نمونه‌های شیر خشک (PIF) غیر استریل می‌باشند و آلودگی به انتروباکتریاسه می‌تواند طی مراحل مختلف فرآوری آن رخ دهد، ضروری است که نمونه‌های شیر خشک نوزادان بر اساس اصول کارخانه و در شرایط آسپتیک تهیه شوند. آلودگی غذاهای نوزادان را تنها می‌توان با نظارت بر نقاط کنترل اصلی و به کار بردن عملکردهای مناسب طی فرآوری کاهش داد یا جلوگیری نمود.

واژگان کلیدی: بخش مراقبت‌های ویژه نوزادان (NICU)، شیرهای خشک، انتروباکتر کلوآکه، حساسیت آنتی بیوتیکی.

* تهران، مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

Email :msoltandallal@gmail.com

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-08-14]

مقدمه

انتروباکتر کلوآکه (*Enterobacter cloacae*) باسیلی گرم منفی، متحرک و بدون اسپور است که از نظر تاکسونومی در خانواده انتروباکتریاسیه طبقه‌بندی می‌گردد (۱).

اعضاء جنس انتروباکتر همانند سایر انتروباکتریاسه‌ها ایجاد عفونت‌های بیمارستانی می‌کنند و مسئول عفونت‌های فرصت‌طلب در بیماران ضعیف شده و بستری در بیمارستان می‌باشند (۲). انتروباکتر کلوآکه میکروارگانیسمی ساپروفیت در فلور نرمال سیستم گوارشی انسان است که به فراوانی از نمونه‌های بالینی ایزوله شده است. انتروباکتر کلوآکه مسئول ۶۵ تا ۷۵ درصد تمام عفونت‌های ناشی از جنس انتروباکتر است (۳). پس از زایمان نوزادان در ابتدا دارای مجرای معدی- روده‌ای استریل می‌باشند، با این وجود کلونیزاسیون با میکروارگانیسم‌ها به سرعت در بیمارستان به‌وسیله انتروباکتر رخ می‌دهد. این کلونیزاسیون به‌ویژه تحت فشار آنتی‌بیوتیکی به فراوانی منبع عفونت‌های اندوژن است. طغیان ناشی از عفونت اندوژن انتروباکتر کلوآکه در بخش‌های بالینی مختلف از جمله بخش مراقبت‌های ویژه نوزادان (NICU) گزارش شده است (۲ و ۴).

انتروباکتر کلوآکه می‌تواند ایجاد عفونت مجرای ادراری، سپسیس، عفونت گردش خون، پنومونی و دیسپلازی برونکوپولمونا‌ری در نوزادان بستری در بیمارستان نماید (۲، ۵ و ۶). شیوع بیماری‌های انتروباکتر کلوآکه به‌عنوان پاتوژنی فرصت‌طلب افزایش یافته است زیرا سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف در بالین به‌طور وسیع استفاده می‌شوند (۲ و ۷) و استفاده گسترده از بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف، آمینوگلیکوزیدها یا فلوروکینولون‌ها به‌عنوان فاکتور خطری برای طغیان‌های متعدد در انتروباکتر کلوآکه بوده است (۲ و ۸). سایر منابع اندوژن و فاکتورهای خطر طغیان‌های انتروباکتر کلوآکهآ مانند مصرف آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف مختلف، دستگیره‌های درب، پودرهای شیر خشک، دست‌ها، سیفون‌ها، دماسنج‌های رکتال، مخازن آب مقطر و سایر وسایل می‌باشند (۲). در مبحث مواد غذایی، نوزادان و بچه‌ها به‌عنوان گروهی از افراد در معرض خطر بالا مورد توجه می‌باشند زیرا سیستم ایمنی آن‌ها ممکن است هنوز به‌طور کامل تکامل نیافته باشند (۹ و ۱۰). در غذا پاتوژن‌ها می‌توانند در دمای اتاق رشد نمایند از این رو دماهای بالا که به ویژه در کشورهای استوایی متداول می‌باشند می‌توانند رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها را تسریع بخشند (۱۱).

مشاهده شده است که این ارگانیسم‌ها می‌توانند در محیط‌های خشک از جمله شرایط موجود در پودرهای شیر خشک دوام آورند و در فرآوری مجدد به سرعت رشد می‌کنند (۱۲). در مطالعه‌ای اولیه روی وجود انتروباکتریاسیه‌ها در پودرهای شیر خشک گونه‌های انتروباکتر ایزوله شده است (۹). انتروباکتر کلوآکه از اعضاء انتروباکتریاسیه است که از شیرهای خشک ایزوله شده است (۱۳). میزان عفونت‌های بیمارستانی ناشی از گونه‌های انتروباکتر به‌ویژه انتروباکتر کلوآکه طی سال‌های گذشته در بسیاری از کشورها به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه که شرایط زمینه‌ای بیشتری برای بروز عفونت فراهم است در حال افزایش است. عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان ناشی از این باکتری‌ها ممکن است سبب ایجاد مشکلات درمانی احتمالاً به‌دلیل آنکه برخی از این سویه‌ها می‌توانند بتالاکتامازهای مختلف مانند بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف نظیر TEM، SHV، و دیگر آنزیم‌ها را

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-08-14]

تولید نمایند (۱۴ و ۱۵). برخی سویه‌های انتروباکتر کلوآکه موجود در بیمارستان می‌توانند با شرایط بیمارستانی خود را سازگار نموده و در این محیط‌ها زنده بمانند (۱۴).

به‌دلیل اهمیت انتروباکتر کلوآکه به‌عنوان پاتوژنی فرصت‌طلب در ایجاد بیماری‌های مختلف در نوزادان بستری در بخش مراقبت‌های ویژه نوزادان (NICU) بیمارستان به‌عنوان افرادی که دارای فاکتورهای خطرساز زمینه‌ای ابتلا به عفونت ناشی از این ارگانیسم می‌باشند و از سویی دیگر اهمیت بررسی منبع آلودگی نوزادان به این ارگانیسم و یافتن منابع آلودگی، هدف از این مطالعه جداسازی سویه‌های انتروباکتر کلوآکه از شیرهای خشک مصرفی نوزادان بستری در NICU و تعیین پروفایل حساسیت آنتی‌بیوتیکی این ایزوله‌ها است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

طی این مطالعه مقطعی که از شهریور ۱۳۹۰ تا مرداماه ۱۳۹۱ طی مدت یک سال انجام شد، تعداد ۱۲۵ نمونه پودر شیر خشک از بیمارستان‌های بزرگ آموزشی درمانی تهران دارای بخش NICU (بیمارستان‌های مرکز طبی کودکان، مفید، بهرامی، شریعتی، امام حسین) و از داروخانه همان بیمارستان و یا در مواردی از داروخانه‌های سطح شهر به‌صورت تصادفی و از برندهای مختلف تجاری متداول مورد مصرف در بخش NICU انتخاب شدند. برای هر نمونه پرسشنامه‌ای تنظیم شده و کدگذاری گردید.

نمونه‌گیری پس از مشخص نمودن هدف مطالعه برای بخش‌های NICU و داروخانه‌های بیمارستان و کسب رضایت از هر یک از بخش‌های مذکور صورت گرفت. نمونه‌ها به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران به‌منظور بررسی آلودگی میکروبی منتقل شدند. در آزمایشگاه همه نمونه‌ها کدگذاری و اطلاعات لازم را در پرسشنامه‌های تنظیم شده وارد شد سپس پس از ضدعفونی کامل درب ظرف‌های نمونه‌های پودر شیر خشک با الکل ۷۰ درصد، در شرایط کاملاً استریل نمونه‌برداری انجام شد.

جداسازی و شناسایی باکتری

به منظور جداسازی و شناسایی میکروارگانیسم از پروتکل استاندارد FDA (FDA Method) (۱۶ و ۱۷) که شامل چهار مرحله اصلی است، استفاده شد. بر اساس این پروتکل در مرحله اول یا مرحله Pre-enrichment، از هر نمونه شیر خشک به‌میزان ۱، ۱۰، ۱۰۰ گرم وزن نموده و به‌ترتیب به سه ارلن حاوی ۹، ۹۰، ۹۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر (DW) استریل با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد اضافه گردید و پس از همگن نمودن و حل شدن پودر شیر خشک، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت انکوبه گردید. پس از انکوباسیون، در مرحله دوم یا مرحله Enrichment به کمک پیپت استریل از هر ارلن ۱۰ میلی‌لیتر نمونه برداشته و به سه ارلن حاوی ۹۰ میلی‌لیتر محیط مایع غنی کننده انتروباکتریاسه (Enterobacteriaceae enrichment broth) (EE broth) (Scharlau Co. Spain) اضافه گردید سپس نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت انکوبه گردیدند. در مرحله سوم یا مرحله Selection از هر نمونه بر روی محیط ویولت رد بایل گلوکز آگار ((Violet Red (VRBG Agar Bile Glucose Agar) و مک کانکی آگار (Scharlau Co. Spanish) به‌صورت خطی کشت

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-08-14]

duplicate انجام شد و پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت انکوبه شدند. در مرحله چهارم یا مرحله Confirmation کلونی‌های رشد نموده بر روی محیط VRBG Agar به کمک آزمایش‌های تشخیصی میکروب‌شناسی شامل رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، اکسیداز و تولید پیگمان بر روی محیط تریپتیک سوی آگار (Tryptic Soy Agar [TSA]) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت و آزمایش‌های بیوشیمیایی سیمون سیترات، آگار آهن سه قندی (TSI)، اندول، حرکت، تولید گاز H2S، متیل رد (MR)، ووگس پروسکوئر (VP)، اوره، لیزین دکربوکسیلاز (LD)، اورنیتین دکربوکسیلاز (OD) و آرژنین دهیدروژناز (ADH) و در صورت نیاز API 20E System مورد تأیید نهایی قرار گرفتند.

آزمایش تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی

با استفاده از روش استاندارد دیسک دیفیوژن (Disk Diffusion Method) بر اساس پروتکل ارائه شده توسط سازمان استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI 2011) (۱۸) و استفاده از دیسک‌های ۲۷ آنتی‌بیوتیک (MAST Co. UK) شامل استرپتومایسین، جنتامایسین، آمیکاسین، توبرامایسین، تتراسایکلین، مینوسایکلین، کوتریموکسازول، کلرامفنیکل، کلیستین، نالیدیکسیک اسید، ایمی‌پنم، مروپنم، آزترونام، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفپیم، آمپی‌سیلین، کاربنی‌سیلین، پی‌پراسیلین، پی‌پراسیلین–تازوباکتام، تیکارسیلین، مزلوسیلین، آموکسی‌سیلین، سیپروفلوکساسین، موکسی‌فلوکساسین، لووفلوکساسین و تیگسیکلین حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جدا شده انتروباکتر کلوآکه به داروهای متداول مؤثر بر علیه باکتری‌های گرم منفی مورد مطالعه قرار گرفت.

آنالیز آماری

نتایج حاصل از مطالعه به کمک نرم‌افزار SPSS (USA،Il ،Chicago،SPSS Inc) ویرایش ۱۹ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

جدول ۱) الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های انتروباکتر کلوآکه جداشده از نمونه‌های شیر خشک مصرفی نوزادان بستری در NICU

N=۲

آنتی‌بیوتیک	حساس (٪)	نیمه حساس (٪)	مقاوم (٪)
آموکسی سیلین (A)	–	–	۲ (۱۰۰)
آمپی سیلین (AP)	–	۲ (۱۰۰)	–
آزترونام (ATM)	۱(۵۰)	۱ (۵۰)	–
سفوتاکسیم (CTX)	–	۱(۵۰)	۱ (۵۰)
سفتازیدیم (CAZ)	۲ (۱۰۰)	–	–
ایمی پنم (IMI)	۲ (۱۰۰)	–	–
مروپنم (MEM)	۲ (۱۰۰)	–	–
مزلوسیلین (MEZ)	–	۱ (۵۰)	۱ (۵۰)
تیکارسیلین (TC)	۲ (۱۰۰)	–	–
موکسی فلوکساسین (MFX)	۲ (۱۰۰)	–	–
نالیدیکسیک اسید (NA)	۲ (۱۰۰)	–	–
استرپتومایسین (S)	–	۲ (۱۰۰)	–
جنتامایسین (GM)	۱ (۵۰)	۱ (۵۰)	–
آمیکاسین (AK)	–	۲ (۱۰۰)	–
تتراسایکلین (T)	۲ (۱۰۰)	–	–
کلرامفنیکل (C)	۲ (۱۰۰)	–	–
لووفلوکساسین (LEV)	۲ (۱۰۰)	–	–
سیپروفلوکساسین (CIP)	۲ (۱۰۰)	–	–
سفپیم (CPM)	۲ (۱۰۰)	–	–
مینوسایکلین (MN)	–	۱(۵۰)	۱ (۵۰)
پی پراسیلین (PRL)	۲ (۱۰۰)	–	–
پی‌پراسیلین–تازوباکتام(PTZ)	–	۲ (۱۰۰)	–
کاربنی سیلین (PY)	۱(۵۰)	۱ (۵۰)	–
توبرامایسین (TN)	–	۲ (۱۰۰)	–
کوتریموکسازول (TS)	۱ (۵۰)	۱(۵۰)	–
تیگسیکلین (TGC)	–	۲ (۱۰۰)	–
کلیستین (CO)	۲ (۱۰۰)	–	–

یافته‌ها

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد از ۱۲۵ نمونه پودر شیر خشک مورد بررسی که در بخش NICU مورد

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-08-14]

استفاده قرار می‌گیرند ۲ نمونه (۱/۶ درصد) از نظر آلودگی به باکتری انتروباکتر کلوآکه مثبت بودند. داده‌های آزمایش تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیک نشان داد که تمام سویه‌های ایزوله شده به بیشتر آنتی بیوتیک‌های مؤثر بر روی باکتری‌های گرم منفی در بالین حساس می‌باشند.
با این وجود تمام سویه‌های انتروباکتر کلوآکه جداشده به آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین مقاوم بودند و نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، آمیکاسین، استرپتومایسین، پیپراسیلین- تازوباکتام، توبرامایسین و تیگسیکلین نیمه حساس بودند (جدول ۱).

بحث

انتروباکتر کلوآکه عضوی از خانواده انتروباکتریاسیه است و در طبیعت در همه جا پراکنده است. این باکتری معمولاً از انسان‌ها، گیاهان، حشرات، آب، خاک و فاضلاب ایزوله شده است. انتروباکتر کلوآکه ارگانیسمی فرصت‌طلب است که سبب ایجاد عفونت‌های بیمارستانی در افراد مختلف به‌ویژه نوزادان نارس، نوزادان دارای نقص سیستم ایمنی و همچنین بیماران دارای نقص سیستم ایمنی در تمام گروه‌های سنی می‌گردد (۱۹ و ۲۰). همچنین این ارگانیسم به‌عنوان یک پاتوژن در گیاهان مختلف از جمله ذرت، نارگیل، سیب و سایر محصولات غذایی ایجاد بیماری می‌نماید. طیف وسیعی از محصولات ممکن است طی فصل رشد به این باکتری آلوده شوند و ارگانیسم می‌تواند در ذخایر این منابع غذایی زنده بماند (۲۱).
در نتایج حاصل از تحقیق کنونی ۱/۶ درصد پودرهای شیر خشک مصرفی نوزادان به باکتری انتروباکتر کلوآکه آلوده بودند. در نقاط مختلف جهان مانند کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه بررسی‌های گوناگونی روی آلودگی پودرهای شیر خشک مورد استفاده جهت تغذیه نوزادان انجام گرفته است و باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسیه از جمله انتروباکتر کلوآکه را با درصدهای متفاوتی گزارش شده است (۹ و ۲۲). بیشتر بررسی‌ها در کشورهای صنعتی صورت گرفته است و در کشورهای در حال توسعه از جمله کشور ما مطالعات بسیار محدود می‌باشند. در کشور ما این مطالعه از اولین بررسی‌هایی است که در زمینه آلودگی‌های شیر خشک با حجم بالای نمونه انجام شده است. یافته‌های آزمایش تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که سویه‌های جداشده به بیشتر آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در بالین از جمله تتراسایکلین، کلرامفنیکل، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، سفپیم، ایمی‌پنم و مروپنم حساس می‌باشند، اما حساسیت ایزوله‌ها به برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله آمیکاسین، آمپی‌سیلین، استرپتومایسین و توبرامایسین کاهش یافته است و به آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند آموکسی‌سیلین کاملاً مقاوم می‌باشند. این یافته‌ها امیدبخش است اما باید توجه داشت که انتروباکتر کلوآکه ارگانیسمی است که دارای کپسول پلی‌ساکاریدی بوده و شرایط محیطی نامناسب از جمله خشکی و برخی غلظت‌های ضدعفونی کننده‌ها را تحمل می‌نماید و با مهیا شدن شرایط رشد شروع به رشد و تکثیر می‌کند. از آنجایی که بر روی ارگانیسم‌های محیطی مطالعات اندکی در خصوص حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها انجام می‌گیرد اما این موضوع واضح است که الگوهای حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جدا شونده از نمونه‌های بالینی با نمونه‌های محیطی ممکن است بسیار متفاوت باشد زیرا سویه‌های جداشونده از نمونه‌های بالینی در محیط بیمارستان در برخورد با آنتی‌بیوتیک‌های مصرفی

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-08-14]

توسط بیماران قرار دارند و به سرعت سعی در بروز مقاومت در برابر این آنتی‌بیوتیک‌ها را دارند از سویی دیگر در محیط بیمارستان انواعی از ارگانیسم‌های مختلف مقاوم به طیفی از داروها یکجا جمع هستند و فاکتورهای ژنتیکی کد کننده انتقال آنتی‌بیوتیکی به آسانی بین این ارگانیسم‌ها منتقل می‌گردند و بسیاری از از ارگانیسم‌های حساس به سرعت مقاوم می‌شوند.
در صورتی که سویه‌های محیطی به‌دلیل آنکه کمتر در تقابل با آنتی‌بیوتیک‌ها قرار دارند معمولاً به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها حساس هستند.
در غذای حیوانات جهت ترغیب و تحریک رشد از آنتی‌بیوتیک‌های گوناگون به فراوانی استفاده می‌شود زیرا آنتی‌بیوتیک‌ها هم باعث افزایش جذب غذا در روده حیوانات و هم سبب کاهش حساسیت حیوانات به عفونت‌های باکتریایی می‌گردند. نگرانی بزرگ آن است که این عوامل ضدمیکروبی مشابه در انسان جهت درمان بیماری‌های بالینی استفاده می‌شود. همچنین در نتیجه گسترش استفاده از این عوامل ضدمیکروبی، باکتری‌ها با توجه به سازگاری تکاملی، روش‌هایی را برای خنثی نمودن اثر آنتی‌بیوتیک به‌کار می‌بندند، از این رو آلودگی غذا با باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک تهدیدی بزرگ برای سلامت ملی بوده و باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک به‌طور قوی درمان عفونت‌های باکتریایی را در انسان با مشکل مواجه می‌نمایند (۲۳). مستندات علمی زیادی وجود دارد که ارگانیسم‌های مقاوم می‌توانند با زنجیره غذایی به انسان‌ها منتقل گردند. شواهدی وجود دارد که استفاده متداول از آنتی‌بیوتیک‌ها در حیوانات جهت درمان بیماری‌ها یا افزایش رشد آن‌ها منجر به مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها می‌شود. این ارگانیسم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک می‌توانند انسان‌ها را آلوده نموده یا با تماس مستقیم یا محصولات غذایی با منشاء حیوانی به انسان‌ها منتقل شوند (۲۳ و ۲۴).
ارگانیسم‌های فرصت‌طلب مختلف از شیرهای خشک نوزادان ایزوله شده است و برخی از باکتری‌ها نظیر انتروباکتر ساکازاکی در این گروه سنی بالقوه بیماری‌زا بوده و شیرهای خشک مصرفی باید فاقد این ارگانیسم باشند از سوی دیگر چون نوزادان بستری در بخش مراقبت‌های ویژه دارای ضعف سیستم ایمنی هستند ارگانیسم‌های فرصت‌طلب موجود در PIF نیز می‌توانند در این افراد ایجاد بیماری نمایند (۲۸-۲۵).
از این رو بررسی‌های گسترده بر روی نمونه‌های شیر خشک مصرفی نوزادان به‌ویژه در بخش NICU که نوزادان بستری در این بخش معمولاً دارای فاکتورهای خطر گوناگون (ضعف ایمنی، کاهش وزن، تولد پیش از موعد، بیماری‌های زمینه‌ای تضعیف‌کننده سیستم ایمنی) می‌باشند، از نظر ارگانیسم‌های پاتوژن فرصت‌طلب دارای اهمیت زیادی است و می‌تواند به‌عنوان موضوعی مهم در دستور کار بررسی‌کنندگان آلودگی‌های پودرهای شیر خشک و همچنین دیگر مواد غذایی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

انتروباکتر کلوآکه به‌عنوان عضوی از خانواده انتروباکتریاسیه از جمله پاتوژن‌های فرصت‌طلب هستند که به‌عنوان یک باکتری ساکن در محیط‌های بیمارستانی بخش عمده‌ای از بیماری‌های اکتسابی از بیمارستان را سبب می‌شوند. این ارگانیسم‌ها به‌دلیل دارا بودن فاکتورهای ویرولانس و کسب مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی به چندین دارو، خطر بالقوه در عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شوند. از سوی دیگر اضافه نمودن عوامل ضد میکروبی به غذای حیوانات جهت

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-08-14]

ترغیب و تحریک رشد و افزایش فرآورده‌های حیوانی و سودهای اقتصادی بالاتر، خطر بروز مقاومت دارویی را افزایش می‌دهد. آگاهی از گونه‌های انتروباکتر کلوآکه تولیدکننده ESBL و مقاوم به چندین دارو در صنعت لبنیات دارای اهمیت فراوانی است، زیرا در صورت عدم کنترل ارگانیسم‌های تولیدکننده ESBL ممکن است این باکتری‌ها از طریق شیر، پودرهای شیر خشک و محصولات آن به جامعه انسانی منتقل گردند. از آنجایی که نمونه‌های شیر خشک غیر استریل می‌باشند و آلودگی می‌تواند طی تولید شیر و یا آماده‌سازی آن به انتروباکتریاسیه رخ دهد ضروری است که نمونه‌های شیر خشک نوزادان بر اساس اصول کارخانه و در شرایط آسپتیک تهیه شوند. دو مسیر اصلی که از آن طریق انتروباکتر کلوآکه می‌تواند وارد شیرهای خشک شود شامل (۱) آلودگی اولیه از طریق ترکیبات آلوده اضافه شونده به شیر خشک پس از خشک نمودن یا از محیط فرآوری پس از خشک نمودن و قبل از بسته‌بندی، و (۲) با آلودگی خارجی محصول طی آماده سازی دوباره در خانه یا محیط بیمارستان (مثلاً از طریق اثاثیه که به خوبی تمیز نشده‌اند) هستند. از این رو جلوگیری از ورود ارگانیسم از هر کدام از این مسیرها می‌توانند در کنترل عفونت مؤثر باشد. از سویی دیگر استفاده از روش‌های شناسایی استاندارد شده و نیز طبقه‌بندی طغیان‌ها از نظر جغرافیایی و زمانی می‌تواند در کنترل عفونت در NICU نقش داشته باشند. بررسی آلودگی‌ها (مثلاً در لوله‌های مورد استفاده برای تغذیه نوزادان)، حذف رقابتی جهت کنترل یا پیشگیری از رشد ارگانیسم، بررسی کارآیی ضدعفونی‌کننده‌ها، ارزیابی روش‌های مرتبط با تهیه و تغذیه نوزادان با شیر خشک در بیمارستان‌ها و در خانه همه در کنترل عفونت نقش دارند. بررسی بخش‌های نوزادان، بخش‌های مراقبت ویژه نوزادان و محیط‌های فرآوری غذا از نظر وجود انتروباکتر کلوآکه و ارزیابی روش‌های بهداشتی در بیمارستان‌ها و خانه که ممکن است در عفونت‌های نوزادی دخالت داشته باشند، می‌توانند در تدوین برنامه‌های پیشگیری‌کننده در حذف عفونت ارزشمند باشند. آلودگی غذاهای نوزادان را فقط می‌توان با نظارت بر نقاط کنترل اصلی و به کار بردن عملکردهای مناسب طی فرآوری کاهش داد یا جلوگیری نمود و این مهم نیازمند گنجاندن اصول بررسی آلودگی‌های شیرهای خشک مصرفی نوزادان از نظر این پاتوژن‌های فرصت‌طلب در دستور کار ارگان‌های کنترل‌کننده آلودگی‌های شیر خشک است.

سپاس و قدردانی

از پرسنل آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران به‌دلیل همکاری‌های بی‌دریغ‌شان نهایت سپاس‌گزاری را داریم.

References:

1.Lin YC, Chen TL, Ju HL, et al. Clinical characteristics and risk factors for attributable mortality in Enterobacter cloacae bacteremia. J Microbiol Immunol Infect 2006; 39:67-72.

2.Van den Berg RW, Claahsen HL, Niessen M, et al. *Enterobacter cloacae* outbreak in the NICU related to disinfected thermometers. J Hosp Infect 2000; 45: 29-34.

3.Lee SO, Kim YS, Kim BN, et al. Impact of previous use of antibiotics on development of resistance to extended-spectrum cephalosporins in patients with Enterobacter bacteremia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2002; 21:577-81.

4.Juhász E, Jánvári L, Tóth A, et al. Emergence of VIM-4 and SHV-12 producing *Enterobacter cloacae* in a neonatal intensive care unit. Int J Med Microbiol 2012; 302: 257-60.

5.Tang RB, Hwang BT. Neonatal bacteremia in a neonatal intensive care unit: analysis of causative organisms and antimicrobial susceptibility. J Chin Med Assoc 2004; 67:15-20.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-08-14]

6.Mohan Reddy C, Willoughby LF, Hara S, et al. Neonatal Meningitis Due to *Enterobacter cloacae*. J Natl Med Assoc 1978; 70: 347.
7.Huber TW, Thomas JS. Detection of resistance due to inducible beta-lactamase in *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*. J Clin Microbiol 1994; 32:2481–86.
8.Acolet D, Ahmet Z, Houang E, et al. *Enterobacter cloacae* in a neonatal intensive care unit: account of an outbreak and its relationship to use of third generation cephalosporins. J Hosp Infect 1994; 28: 273-86.
9. Abdullah Sani N , Hartantyo SH , Forsythe SJ. Microbiological assessment and evaluation of rehydration instructions on powdered infant formulas, follow-up formulas, and infant foods in Malaysia. J Dairy Sci 2013; 96:1-8.
10. Marino DD. Water and food safety in the developing world: Global implications for health and nutrition of infants and young children. J Am Diet Assoc 2007; 107:1930–4.
11.Tirado MC, Clarke R, Jaykus LA, et al. Climate change and food safety: A review. Food Res Int 2010; 43:1745-65.
12.Iversen C, and Fanning S. Introductory note to the Cronobacter. Int J Food Microbiol 2009; 136:151.
13.Sani NA. YI L. Enterobacteriaceae, *Cronobacter* (*Enterobacter*) *sakazakii* and Microbial Population in Infant Formula Products in the Malaysian Market. Sains Malays 2011; 40: 345–51.
14.Pancer K, Gut W, Fila S, et al. Strains of *Enterobacter cloacae* Isolated in a Hospital Environment-Some Phenotypic and Genotypic Properties. Indoor Built Environ 2006; 15: 99-104.
15.Ma L, Chang FY, Fung CP, et al. Variety of TEM-, SHV-, and CTX-M-type beta-lacta-mases present in recent clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterobacter cloacae* from Taiwan. Microb Drug Resist 2005; 11: 31–9.
16.Anonymus: U.S. Food and Drug Administration, 2002a. Isolation and enumeration of *Enterobacter sakazakii* from dehydrated powdered infant formula. http://www.cfsan.fda. gov/~comm/mmesakaz.html. Accessed:19.09.2003.
17.Anonymus: U.S. Food and Drug Administration, 2002b. Questions and answers on method for *E. sakazakii* in powdered infant formula. http://www.cfsan.fda.gov/~comm/mmesakqa. Html. Accessed: 10.10.2003.
18.Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2011, M100-S21. Vol. 31 No. 1.
19.Traoré P, Coquery S, Zupan-Simunek V, et al. Multiple brain abscesses complicating *Enterobacter cloacae* sepsis in a premature infant. Arch Pediatr 2010; 17: S184-7.
20.Mahapatra A, Ghosh SK, Mishra S, Pattnaik D, Pattnaik K, Mohanty SK. *Enterobacter cloacae*: a predominan pathogen in neonatal septicaemia. Indian J Med Microbiol. 2002; 20: 110-2.
21.Schroeder BK, Waters TD, du Toit LJ. Evaluation of Onion Cultivars for Resistance to *Enterobacter cloacae* in Storage. Plant Dis 2010; 94: 236-43.
22.Muytjens HL, Roelofs-Willemse H, Jaspar GHJ. Quality of powdered substitutes for breast milk with regard to members of the family Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol 1988; 26:743-6.
23.Fielding BC, Mnabisa A, Gouws PA, et al. Antimicrobial-resistant Klebsiella species isolated from free-range chicken samples in an informal settlement. Arch Med Sci 2012; 8: 39-42.
24.Wang HH, Manuzon M, Lehman M, et al. Food commensal microbes as a potentially important avenue in transmitting antibiotic resistance genes. FEMS Microbiol Lett 2006; 254: 226-31.
25.Mardaneh J, Soltan-Dallal MM. Isolation and Identification of *E. cowanii* from Powdered Infant Formula in NICU and Determination of Antimicrobial Susceptibility of Isolates. Iran J Pediater 2014; 24:261-66.
26.Mardaneh J, Soltan-Dallal MM. Isolation, identification and antimicrobial susceptibility of *Pantoea* (*Enterobacter*) *agglomerans* isolated from consumed powdered infant formula milk (PIF) in NICU ward: First report from Iran. Iran J Microbiol. 2013;5:263-67.
27.Ahmadi K, Farajzadeh Sheikh A, Mardaneh J, Modarresi F, Shoja S. Detection of *Enterobacter sakazakii* in neonatal sepsis by PCR on 16S ribosomal RNA. ISMJ 2014; 17:272-79.
28.Mardaneh J, Soltan-Dallal MM, Mehrnaz Taheripoor M, Rajabi Z. Isolation, identification and antimicrobial susceptibility pattern of *Tatumella ptyseos* strains isolated from powdered infant formula milk consumed in neonatal intensive care unit: first report from Iran. Jundishapur J Microbiol. 2014; 7(6): e10608.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-08-14]

ISMJ 2014; 17(5): 907-915

Orginal Article

Isolation and determination antimicrobial susceptibility pattern of *Enterobacter cloacae* strains isolated from consumed powdered infant formula milk in NICU ward

J. Mardaneh [1], MM. Soltan Dallal [2,3*], M. Taheri Poor [4]

[1]*Professor Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Nemazee Hospital, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, IRAN.*
[2]*Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, IRAN.*
[3]*Division of Bacteriology, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, IRAN.*
[4]*Science and Research branch, Islamic Azad University, Arak.*

(Received 4 May, 2013 Accepted 30 Jun, 2013)

Abstract

Background: *Enterobacter cloacae* is a rod-shaped, gram-negative bacillus, from the family of Enterobacteriaceae. It is an opportunistic pathogen and causes disease in plants and humans (premature and immunocompromised persons of all age groups). The goal of this study was to isolate and determine antimicrobial susceptibility pattern of *Enterobacter cloacae* strains isolated from consumed powdered infant formula (PIF) milk in Neonatal Intensive Care Unit (NICU) ward.

Material and Methods: In this cross-sectional study, a total of 125 consumed powdered infant formula milk in NICU ward were surveyed. Isolation and Identification of microorganisms was carried out according to FDA method. Antimicrobial susceptibility test was performed using the standard disc diffusion method based on CLSI (2011) recommendations.

Results: *Enterobacter cloacae* was isolated from 2 (1.6%) of 125 PIF milk samples. The results showed that isolated strains are sensitive to most antibiotics. All isolates were resistant to amoxicillin.

Conclusion: Since the infant formula (PIF) samples are unsterile products and contamination could occure during different steps, it is imperative to prepare the infant formula milk foods according to the manufacturer's instruction and in an aseptic condition. Contamination of PIF only could be reduced or prevented by monitoring the critical control points and taking appropriate action during the processing.

Keywords: Neonatal Intensive Care Unit (NICU), powdered infant formula milk, *Enterobacter cloacae*, antimicrobial susceptibility.

Address for correspondence: Mohammad Mehdi Soltan Dallal, Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, IRAN. E-mail: msoltandallal@gmail.com

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2022-08-14]