



شناسایی ایزوله‌های انتروباکتر تولیدکننده ESBL و دارای ژن blaSHV جدا شده از عفونت‌های گردش خون در طی ۱۰ سال در جنوب ایران (شیراز)

صدیقه نعمت‌الهی^۱، احمد مصدق^{۲*}، جلال مردانه^۳، بهمن پورعباس^۴

^۱ گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوqi یزد، واحد بین‌الملل، یزد، ایران

^۲ گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوqi یزد، یزد، ایران

^۳ گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران

^۴ مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی بالینی استاد البرزی، بیمارستان نمازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

(دریافت مقاله: ۹۴/۴/۳ - پذیرش مقاله: ۹۴/۶/۱۵)

چکیده

زمینه: در تمام جهان مقاومت چند دارویی در بین باکتری‌های گرم منفی ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی یا اکتسایی از جامعه در حال ظهور است. اهداف این مطالعه شامل: (۱) تعیین پروفایل حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های انتروباکتر جدا شده از خون، (۲) شناسایی فوتاپی‌سویه‌های تولیدکننده ESBL و AmpC، (۳) شناسایی سویه‌های MDR، (۴) شناسایی ایزوله‌های دارای ژن blaSHV با استفاده از روش PCR بودند.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مقطعی بر روی ۹۰ ایزوله انتروباکتر که در طی ۱۰ سال (۱۳۸۴-۱۳۹۳) از عفونت گردش خون دارالی از بیماران بستری در بیمارستان‌های شهر شیراز با استفاده از سیستم اتوماتیک BACTEC 9240 API 20E اختصاصی انتروباکتریاسیه مجددًا مورد شناسایی نهایی قرار گرفتند. بر اساس پروتکل ارائه شده توسط CLSI در سال ۲۰۱۴، از روش استاندارد دیسک دیفیوژن و تست فوتاپی DDST به ترتیب برای تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی و شناسایی سویه‌های تولیدکننده ESBL استفاده شد. از روش ملکولی PCR برای شناسایی سویه‌های دارای ژن blaSHV استفاده شد.

یافته‌ها: در این مطالعه مروپنم ۹۸/۹ (درصد) و ایمپنم ۹۵/۶ (درصد) و کلیستین ۹۳/۳ (درصد) مؤثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها بر علیه ایزوله‌ها بودند. در بین سفالوپسپورین‌های نسل سوم مورد بررسی ایزوله‌ها بهترین پاسخ را به سفتازیدیم (۴۷/۸ درصد) و پس از آن به سفتریاکسون (۴۲/۲ درصد) نشان دادند. نتایج بررسی نشان داد که ۱۱/۱ درصد ایزوله‌ها MDR هستند. ۱۵/۵ درصد ایزوله‌ها همزمان ESBL مثبت و AmpC مثبت بودند. نتایج PCR به منظور جستجوی ژن blaSHV در ایزوله‌های انتروباکتر مشخص کرد که ۷/۸ درصد سویه‌ها دارای این ژن بوده‌اند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد مقاومت ایزوله‌های انتروباکتر به نسل سوم سفالوپسپورین‌ها به یک مشکل تهدید کننده سلامت ملی تبدیل شده است. انجام مطالعات اپیدیمولوژیک کشوری به منظور ارائه برنامه جامع ملی جهت جلوگیری از ظهور و گسترش باکتری‌های مقاوم در کشور حیاتی است. ما معتقدیم به منظور حفظ کاربپنمهای به عنوان راهکار نهایی جهت درمان گونه‌های انتروباکتر، کاربپنمهای دارای درمان ایزوله‌های مقاوم به دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده شوند.

واژگان کلیدی: عفونت گردش خون، انتروباکتر، حساسیت آنتی‌بیوتیکی، تولید ESBL، ژن blaSHV

* یزد، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوqi یزد

مهمترین مقاومت‌های در حال ظهور در انتروباکتریاسه، مقاومت به بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف است که عمدتاً مرتبط با تولید بتالاکتام‌های مهارشونده توسط کلاؤولانیک اسید است. انتروباکتر به وسیله تولید بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف Extended Spectrum Beta-lactamases (ESBLs) به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مقاوم می‌شوند. این آنزیم‌ها با شکستن حلقه بتالاکتام آنتی‌بیوتیک سبب غیرفعال شدن آن می‌شوند (۱). یک ESBL بتالاکتامازی است که ممکن است مقاومت یا کاهش حساسیت به اکسی‌آمینوسفالوسپورین‌ها (یعنی سفتراکسیم، سفتراکسون، سفتازیدیم) و مونوباکتم‌ها (یعنی آزترونام) را به باکتری اهدا کند (۲). انواعی از ESBL‌ها در انتروباکتریاسه گزارش شده است (۴). شناسایی ESBL‌ها به منظور غربالگری بیماران و به دنبال آن به کار بردن راهکارهایی جهت کنترل عفونت بیمارستانی ضروری است (۵). استفاده از سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف جهت درمان بیماران سبب بروز مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها گردیده است (۶). بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف آنزیم‌های باکتریایی وابسته به پلاسمید هستند که سبب مقاومت به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام وسیع‌الطیف می‌شوند. فشار آنتی‌بیوتیکی انتخابی که در نتیجه استفاده زیاد از سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف به وجود می‌آید و انتقال متقاطع ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی بین باکتری‌ها سبب ظهور سویه‌های تولیدکننده ESBL در خانواده انتروباکتریاسه می‌گردد (۷). انتروباکتر کلوآکه تولیدکننده ESBL در حال افزایش است (۸). به دلیل بیان پنهانی تولید ESBL در ایزولهایی که تولید فراوان AmpC دارند میکروبیولوژیست‌ها باید دقت کنند که فنوتیپ تولیدکننده AmpC را از تولید

مقدمه

اولین بار در سال ۱۹۷۰ انتروباکتر به عنوان یکی از عوامل ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی در افراد دارای ضعف سیستم ایمنی مورد توجه قرار گرفت. دستگاه تنفسی، دستگاه ادراری و مجرای معدی روده‌ای شایع‌ترین محل‌های ایجاد عفونت می‌باشند (۱). گونه‌های انتروباکتر به ویژه انتروباکتر کلوآکه آ به عنوان یکی از پاتوژن‌های مهم ایجاد کننده عفونت‌های گردش خون در بیمارستان در دهه گذشته ظهور کرده است. آنها مجرای معدی- روده‌ای (GI) را کلونیزه نموده و از عوامل مهم ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی و عفونت فرصت‌طلب محسوب می‌شوند. فاکتورهای زمینه‌ای مساعد کننده کسب عفونت گردش خون شامل دیابت‌ها، بدخیمی، نوتروپنی و بستری شدن طولانی مدت در بیمارستان به ویژه در بیماران دریافت کننده آنتی‌بیوتیک، جراحی‌های تهاجمی و کترهای قرار داده شده در عروق مرکزی هستند. طغیان‌های بیمارستانی عفونت ناشی از انتروباکتر کلوآکه در بخش‌های مختلف به ویژه بخش‌های نوزادان و کودکان گزارش شده است (۲ و ۳). از زمان شروع استفاده از سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف شیوع پاتوژن‌های گرم منفی مقاوم به این آنتی‌بیوتیک در حال افزایش است. اگر چه مقاومت ضدمیکروبی از طریق چند مکانیسم رخ می‌دهد.

مهمترین مکانیسم، تولید آنزیم‌هایی است که حلقه بتالاکتام را هیدرولیز می‌نمایند. بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف وابسته به پلاسمید اولین بار در اواسط سال ۱۹۸۰ گزارش شدند (۳).

هم‌اکنون در سراسر جهان مقاومت چندارویی در بین باکتری‌های گرم منفی ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی یا اکتسابی از جامعه در حال ظهور است. یکی از

(۳) شناسایی سویه‌های MDR، AmpC شناسایی ایزوله‌های دارای ژن blaSHV با استفاده از روش PCR، بودند.

مواد و روش‌ها

جامعه مورد مطالعه و نمونه‌گیری

این مطالعه مقطعی که در طی ۱ سال از فروردین تا اسفند سال ۱۳۹۳ صورت پذیرفت، بر روی ایزوله‌های انتروباکتر که در مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی بالینی در طی ۱۰ سال (۱۳۸۴-۱۳۹۳) به صورت لیوفلیزه ذخیره شده بودند انجام شد. ایزوله‌ها از نمونه خون ارسالی از بیماران بستری در بیمارستان‌های شهر شیراز با استفاده از سیستم BACTEC 9240 جدا شده بودند. ایزوله‌های انتروباکتر ذخیره شده به صورت لیوفلیزه از یخچال خارج و کشت بر روی محیط‌های انتخابی میکروب‌شناسی (به منظور اطمینان از زنده بودن و خالص بودن ایزوله‌ها) انجام شد.

انجام کشت مجدد و بررسی خالص بودن کشت و تأیید نهایی ایزوله‌ها

نمونه‌ها بر روی مک‌کانکی آگار (Merck Co. Germany) کشت داده شدند، محیط‌های کشت در دمای 35 ± 2 درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶-۱۸ ساعت انکوبه و سپس از نظر رشد باکتری و تشکیل کلونی بر روی محیط‌ها بررسی گشتند. کلونی‌های باکتری‌های گرم منفی به کمک تست‌های مورفولوژی و بیوشیمیایی اولیه شامل مورفولوژی و رنگ کلونی، رنگ آمیزی گرم، اکسیداز، کاتالاز، DNase و حرکت مورد شناسایی اولیه قرار گرفتند و به دنبال آن با استفاده از تست‌های

ESBL افتراق دهنده، زیرا ممکن است که دو مکانیسم به طور همزمان در یک سویه وجود داشته باشند. به طور قابل توجهی اطلاعات کمی در خصوص اپیدمیولوژی و میکروبیولوژی انتروباکتر کلوآکمه آنسبت به سایر تولیدکننده‌های ESBL نظیر کلبسیلا و اشریشیاکلی وجود دارد (۹).

گونه‌های انتروباکتر به طور فراینده‌ای به عنوان پاتوژن‌های بیمارستانی مهم مطرح هستند. مقاومت به سفالوسپورین‌ها اغلب درمان عفونت‌های ناشی از انتروباکتر را با مشکل مواجه نموده است. در گزارشی مشاهده شده که ۳۶ درصد عفونت‌های انتروباکتر در بخش‌های مراقبت ویژه (ICUS) به سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف مقاوم هستند. علاوه بر این ایزوله‌های انتروباکتر ممکن است در تست اولیه در محیط آزمایشگاه به سفالوسپورین‌ها حساس باشند، اما در طی درمان بیمار به دلیل افزایش تولید آنزیم بتالاکتاماز توسط باکتری مقاوم شوند. به نظر می‌رسد که عفونت‌های ناشی از انتروباکتر مقاوم به ترکیبات ضدمیکروبی همراه با مرگ و میر بالاتر، بستری شدن طولانی‌تر در بیمارستان، هزینه‌های درمانی بالاتر در مقایسه با عفونت ناشی از سویه‌های حساس همراه خواهد بود. مقاومت به سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف به طور قابل توجهی بهبودی بیماران مبتلا به باکتریمی ناشی از انتروباکتر را با مشکل مواجه می‌کند (۱۰ و ۱۱). بروز عفونت‌های ناشی از گونه‌های انتروباکتر کلوآکه مقاوم به نسل سوم سفالوسپورین‌ها نگران کننده بوده و این سویه‌های مقاوم در حال گسترش هستند. بدین منظور اهداف این مطالعه شامل: (۱) تعیین پروفایل حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های انتروباکتر جدایش از خون در طی ۱۰ سال، (۲) شناسایی فنوتایپی سویه‌های تولیدکننده ESBL و

تا ۱۸ ساعت، نتایج خوانده شدند. جهت ارزیابی صحت تست، از سویه *E.coli* ATCC 25922 به عنوان کنترل استفاده شد.

شناسایی فنوتیپی سویه‌های (MDR)

Extensively-drug (XDR) Resistant

(Pan-drug Resistant (PDR) و Resistant

بر اساس تعریف، سویه‌هایی که حداقل به سه کلاس آنتی‌بیوتیکی اصلی مقاوم بودند به عنوان MDR در نظر گرفته شدند؛ سویه‌هایی که به همه کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی بجز یک یا دو دارو مقاوم بودند به عنوان XDR و ایزوله‌هایی که به همه آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بودند به عنوان PDR در نظر گرفته شدند.

ESBL شناسایی سویه‌های تولید کننده آنزیم‌های

Double-Disc Synergy Test(DDST)

بر اساس پروتکل CLSI در سال ۲۰۱۴ برای شناسایی سویه‌های تولید کننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف از روش DDST استفاده شد (۱۲). در مرحله اول رقت ۰/۵ مک فارلنند از باکتری مورد نظر در ۵ میلی‌لیتر نرمال سالین تهیه گردید. سپس کشت شترنجی از رقت تهیه شده بر روی محیط مولر هیتون آکار انجام شد. سپس دیسک‌های سفوتاکسیم و سفوتاکسیم-کلاوولانیک اسید و سفتازیدیم و سفتازیدیم-کلاوولانیک اسید با فاصله ۲۴ میلی‌متر (center to center) بر روی پلیت مولر هیتون آکار کشت داده شده، قرار داده شدند. پس از آن انکوباسیون در دمای 35 ± 1 درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت صورت گرفت و در پایان پلیت محیط کشت از نظر تشکیل هاله عدم رشد مورد بررسی قرار گرفت. در صورتی که تفاوت قطر هاله عدم رشد باکتری اطراف هر دیسک به تنها بی در مقایسه با دیسک ترکیبی

بیوشیمیابی تعییه شده در سیستم API 20E اختصاصی انتروباکتریاسه‌ها و به دست آوردن کد ارگانیسم و وارد کردن کد در نرم‌افزار API مورد شناسایی نهایی قرار گرفتند (۳).

تعیین پروفایل حساسیت ضدمیکروبی ایزوله‌های انتروباکتر

بدین منظور در این تحقیق بر اساس پروتکل پیشنهادی سازمان استاندارهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI) با استفاده از روش استاندارد دیسک دیفیوژن وضعیت پاسخ ایزوله‌ها به ۱۷ آنتی‌بیوتیک (ساخت شرکت CLSI در کشور دانمارک) پیشنهادی توسط Rosco برای باکتری انتروباکتر بررسی شد (۱۲). این داروها شامل کلیستین (CO، ۱۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل SXT (CLR، ۳۰ میکروگرم)، سولفامتوکسازول (CFO، ۳۰ میکروگرم)، سفوکسیتین (CAZ، ۳۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (CTX، ۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (CFM، ۵ میکروگرم)، سفتریاکسون (CTR، ۳۰ میکروگرم)، سفپیم (FEP، ۳۰ میکروگرم)، پیپراسیلین- تازوپاکتم (PI+TZ، ۱۰+۱۰۰ میکروگرم)، آموکسیسیلین- کلاوولانیک اسید (AZT، AMC، ۱۰+۲۰ میکروگرم)، آزترونام (CIPR، ۵ میکروگرم)، سپروفلوکسازین (GEN، ۱۰ میکروگرم)، آمیکاکسین (AMI، ۳۰ میکروگرم)، ایمیپن (IMP، ۱۰ میکروگرم)، و مروپین (MRP، ۱۰ میکروگرم) بودند. در این روش با استفاده از نرمال سالین رقت ۰/۵ مک فارلنند از باکتری تهیه گردید و کشت بر روی محیط مولر هیتون آکار انجام و پس از انکوباسیون محیط‌ها در دمای 35 ± 2 درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶

ساعت در محیط TSB در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه در دور ۱۰۰۰rpm سانتریفیوژ شد. مایع رویی بیرون ریخته شد و رسوب حاصله در ۱ میلی‌لیتر TE Buffer (pH=۷/۸، ۱mM EDTA، ۱۰mM Tris) مجدداً سانتریفیوژ گردید و سپس رسوب حاصله در ۱۰۰ میکرولیتر TE Buffer حل گشت و میکروتیوب در ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد، آنگاه به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ rmp سانتریفیوژ شد. مایع رویی در میکروتیوب‌های کدگذاری شده ذخیره شد و به عنوان نمونه DNA در واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفت. قبل از انجام PCR نمونه DNA به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر استخراج شد و نیز بردن بر روی ژل آگارز و انجام الکتروفورز و سپس مشاهده باند زیر نور UV، مورد ارزیابی قرار گرفت. از پرایمرهای موجود در جدول زیر جهت انجام واکنش PCR استفاده شد (۱۳).

خود ۵ میلی‌متر یا بیشتر می‌بود به عنوان سویه تولیدکننده بتالاکتماز وسیع‌الطیف (ESBL-positive) در نظر گرفته می‌شد.

شناسایی فنوتیپی ایزوله‌های تولیدکننده **AmpC** بتالاکتماز

دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی سفپیم (CPM، ۳۰ میکروگرم) و سفوکسیتین (FOX، ۳۰ میکروگرم) برای انجام این تست به کار برد شدند. سویه‌های حساس به سفپیم اما مقاوم به سفوکسیتین به عنوان توانایی تولید **AmpC** بتالاکتماز ثبت شدند.

PCR Assay

سویه‌های انتروباکتر مورد تأیید قرار گرفته، بر روی محیط TSA کشت داده شد و پلیت‌ها به مدت ۱۶-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس با استفاده از روش Boiling Boiling ژنوم ارگانیسم استخراج گردید. در روش Boiling یک میلی‌لیتر از کشت باکتری رشد کرده در طی ۱۸

نام ژن	نام پرایمر	توالی	طول (باز)	اندازه آمپلیکون (bp)
SHV-F		5'-CACTCAAGGATGTATTGTG-3'	۱۹	۸۸۵
SHV-R		5'-TTAGCGTTGCCAGTGCTCG-3'	۱۹	

استفاده از آگارز ۱ درصد روی دستگاه الکتروفورز حاوی بافر ۰.۵X TAE دستگاه ترانسلومیناتور به منظور جستجو باند ۸۸۵ bp مورد آنالیز قرار گرفت. در طی این مطالعه از سویه‌های استاندارد *K.pneumoniae* ATCC 7881 به عنوان کنترل مثبت دارای ژن SHV استفاده می‌شود.

هر سیکل واکنش PCR شامل مرحله واشرست‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد (۵ دقیقه)، واشرست‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد (۳۰ ثانیه)، اتصال پرایمرها در دمای ۵۲ (۳۰ ثانیه) و بسط پرایمرها در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد (۳۰ ثانیه) بود و یک مرحله بسط نهایی پرایمرها در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه اعمال گردید. واکنش PCR در طی ۳۰ سیکل انجام شد. محصول PCR با

آنالیز فنوتایپ‌های مقاومت و الگوی مقاومت متقاطع نشان داد که ۵۱/۱ درصد ایزوله‌ها (۴۶ سویه) همزمان به چهار آنتی‌بیوتیک نسل سوم سفالوسپورین‌ها (سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفکسیم، سفتریاکسون) مقاوم هستند و عملاً این آنتی‌بیوتیک نسل سوم بر علیه بیش از نیمی از سویه‌ها مؤثر نیست. ۳۲/۲ درصد ایزوله‌ها (۲۹ سویه) به آنتی‌بیوتیک‌های نسل سوم و چهارم سفالوسپورین‌ها مقاوم بودند. ۱۲/۲ درصد ایزوله‌ها همزمان به کینولون‌ها (سپروفلوکساسین)، نسل سوم و چهارم سفالوسپورین‌ها مقاومت نشان دادند (جدول ۲).

جدول ۱) پروفایل حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های انتروباکتر جداسده در طی ۱۰ سال از خون بیماران با استفاده از سیستم

(N=۹۰) BACTEC 9240

مقاطوم (%)	حساسیت (%)	آنتی‌بیوتیک
(۶/۷) ۶	(۹۳/۳) ۸۴	کلیستین
(۳۳/۳) ۳۰	(۶۶/۷) ۶۰	کلارامفنیکل
(۳۰) ۲۷	(۷۰) ۶۳	سولفامتوکسازول بتالاکتامها
(۸۴/۴) ۷۶	(۱۵/۶) ۱۴	سفوكسیتین
(۵۲/۲) ۴۷	(۴۷/۸) ۴۳	سفتازیدیم
(۶۱/۱) ۵۵	(۳۸/۹) ۳۵	سفوتاکسیم
(۶۸/۹) ۶۲	(۳۱/۲) ۲۸	سفکسیم
(۵۷/۸) ۵۲	(۴۲/۲) ۳۸	سفتریاکسون
(۳۷/۸) ۳۴	(۶۲/۲) ۵۶	سفپیم
(۳۴/۴) ۳۱	(۶۵/۶) ۵۹	پپراسیلین- تازو باکتم
(۹۴/۴) ۸۵	(۵/۶) ۵	آموکسی‌سیلین-
		کلاوولات‌ات
(۴۸/۹) ۴۴	(۵۱/۱) ۴۶	آرترونام
		کینولون‌ها
(۱۵/۶) ۱۴	(۸۴/۴) ۷۶	سپروفلوکساسین
(۳۶/۷) ۳۳	(۶۳/۳) ۵۷	آمنیفرگلیکوزیدها
(۳۰) ۲۷	(۷۰) ۶۳	جنتامایسین
		آمیکاسین
(۱/۱) ۱	(۹۸/۹) ۸۹	کاربپنپها
(۴/۴) ۴	(۹۵/۶) ۸۶	مرپونم
		ایمی‌پنم

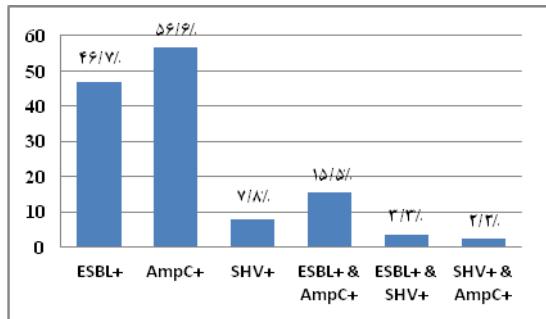
آنالیز آماری

از آزمون کای دو و نرم‌افزار SPSS (USA، II.Chicago,SPSS Inc) ۱۹ جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها

در این مطالعه مقطعی ۹۰ سویه انتروباکتر که در طی ۱۰ سال از نمونه خون بیماران با استفاده از سیستم کشت خون اتوماتیک BACTEC 9240 جدا شده بودند مورد مطالعه قرار گرفتند. به ترتیب، مرپونم (۹۸/۹ درصد) و ایمی‌پنم (۹۵/۶ درصد) و کلیستین (۹۳/۳ درصد)، مؤثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها بر علیه سویه‌ها بودند. در بین سفالوسپورین‌های نسل سوم مورد بررسی ایزوله‌ها بهترین پاسخ را به سفتازیدیم (۴۷/۸ درصد) و پس از آن به سفتریاکسون (۴۲/۲ درصد) درصد نشان دادند. ۶۷/۴ درصد ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک سفکسیم (از سفالوسپورین‌های نسل سوم مقاوم بودند. در بین آنتی‌بیوتیک‌های کلاس بتالاکتام (جز کاربپنپها) ایزوله‌ها بهترین پاسخ را به پپراسیلین- تازو باکتم (۶۵/۶ درصد) نشان دادند. میزان مقاومت به سفوكسیتین (سفاماکسین) ۸۴/۴ درصد بود. سپروفلوکساسین تنها کینولون مورد بررسی در این مطالعه بود که اثر نسبتاً خوبی بر علیه ایزوله‌ها داشت، به طوری که ۸۴/۴ درصد سویه‌ها به این دارو حساس بودند. آمیکاسین در مقایسه با جنتامایسین اثر بهتری بر روی ایزوله‌ها داشت (۷۰ درصد سویه‌ها حساس بودند). از میان تمام داروهای مورد مطالعه ایزوله‌ها بیشترین مقاومت را به آموکسی‌سیلین- کلاوولات‌ات نشان دادند (جدول ۱). نتایج بررسی نشان داد که ۱۱/۱ درصد ایزوله‌ها MDR هستند. تنها ۱ مورد مشاهده شد و هیچ مورد XDR PDR یافت نشد.

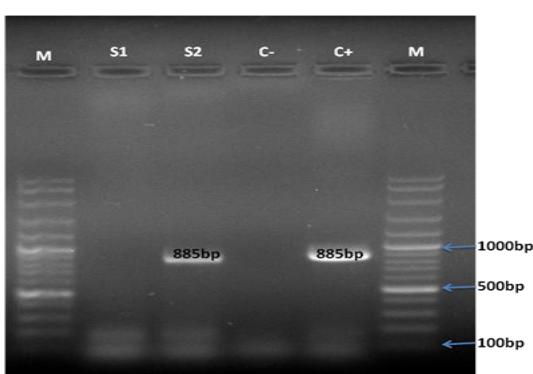
در ایزوله‌های انتروباکتر نشان داد که ۷/۸ درصد سویه‌ها دارای این ژن هستند (نمودار ۳).



نمودار ۲) فراوانی ایزوله‌های انتروباکتر دارای توانایی تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز با استفاده از روش‌های فنوتیپی و ژنتیکی

جدول ۳) شیوع ایزوله‌های انتروباکتر (+) ESBL و (+) SHV و (+) AmpC در دو دوره زمانی ۵ ساله

AmpC(+)	SHV(+)	ESBL(+)	سال
(۳۱/۴) ۱۶	(۱۴) ۱	(۵۰) ۲۱	(N=۳۱) ۸۴-۸۸
(۵۸/۶) ۳۵	(۸۶) ۶	(۵۰) ۲۱	(N=۵۹) ۸۹-۹۳
(۱۰۰) ۵۱	(۱۰۰) ۷	(۱۰۰) ۴۲	جمع کل

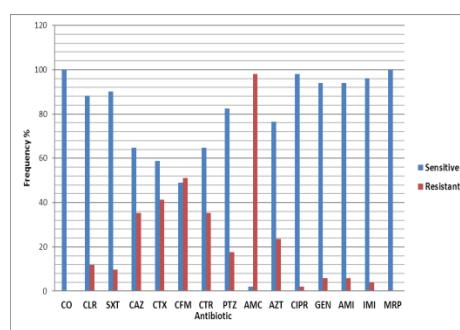


شکل ۱) شناخت ایزوله‌های ژن blaSHV در ایزوله‌های انتروباکتر. M: مارکر ۱۰۰bp. S1: نمونه منفی و S2: نمونه مثبت. C-: کنترل منفی، C+: کنترل مثبت شماره ۱ (Klebsiella pneumoniae ATCC 7881)

جدول ۲) الگوهای Cross-resistance در ایزوله‌های بالینی انتروباکتر جداشده از خون بیماران در طی ۱۰ سال (N=۹۰)

الگو	آنتی‌بیوتیک‌ها	تعداد ایزوله‌ها
A	سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفکسیم، سفتراکسون	۲۶
B	سفپیم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفکسیم، سفتراکسون	۲۹
C	سفپیم، سفوتاکسیم	۲۵
D	سپیروفلوکساسین، سفپیم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفکسیم، سفتراکسون	۱۱
E	سپیروفلوکساسین، سفپیم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفکسیم، سفتراکسون، کلرامفنیکل	۹
F	کلرامفنیکل، سپیروفلوکساسین، کوتربیومکسازول	۹
G	ایمی‌پن، مروپن، سفپیم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفکسیم، سفتراکسون	۱
H	ایمی‌پن، مروپن، سپیروفلوکساسین	۱

ایزوله‌های AmpC مثبت بیشترین مقاومت را به آموکسیسیلین کلاولولانیک اسید نشان دادند (نمودار ۱). فراوانی ایزوله‌های انتروباکتر دارای توانایی تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز با استفاده از روش‌های فنوتیپی و ژنتیکی در شکل ۲ آمده است. شیوع ایزوله‌های انتروباکتر (+) ESBL و (+) SHV و (+) AmpC در دو دوره زمانی ۵ ساله در جدول ۳ خلاصه شده است.



نمودار ۱) پروفایل حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های انتروباکتر جداشده در طی ۱۰ سال از خون بیماران با استفاده از سیستم (N=۵۱) BACTEC

نتایج نشان داد که ۱۵/۵ درصد ایزوله‌ها همزمان ESBL مثبت و AmpC مثبت بودند (نمودار ۲). نتایج PCR به منظور جستجوی ژن blaSHV

بحث

عفونت‌های گردش خون اکتسابی از بیمارستان از عوامل مهم بروز عوارض و ایجاد مرگ و میر در سراسر جهان هستند. گونه‌های انتروباکتر که به عنوان اعضاء فلور نرمال مجرای معدی- روده‌ای هستند، پاتوزن‌های مهمی برای انواعی از عفونت‌ها از قبیل پنومونی، عفونت‌های مجرای ادراری، عفونت‌های زخم و باکتریمی به ویژه در عفونت‌های بیمارستانی می‌باشند. چندین فاکتور خطر برای باکتریمی ناشی از انتروباکتر از قبیل بیماری‌های معدی- روده‌ای، عفونت‌های تهدید کننده حیات، بدخیمی‌ها، استفاده از کترهای عروق مرکزی، استفاده طولانی مدت از آنتی‌بیوتیک‌ها، ایمونوساپرسیو هستند. بروز باکتریمی ناشی از انتروباکتر اکتسابی از بیمارستان در حال افزایش است و ۱۰/۹ درصد عفونت‌های بیمارستانی را در تایوان شامل شده بود. سپسیس ناشی از انتروباکتر اغلب یک عفونت اکتسابی از بیمارستان است و شواهد قوی وجود دارد که تغییرات در فلور باکتریایی مجرای معدی- روده‌ای بیماران بستری در بیمارستان، منجر به انتخاب سویه‌های ویرونلانس و مقاوم می‌شود که در نتیجه آن خطر عفونت وجود دارد (۱۴).

در طی سال‌های ۱۹۹۲-۱۹۹۸ مقاومت انتروباکتر به سفالوسپورین‌های نسل سوم افزایش یافت و از ۲۲/۲ به ۵۹/۲ درصد رسید و ایزووله‌های انتروباکتر کلوآکه در ۸۴/۳ طی این سال‌ها مقاومت بالایی به سفوروکسیم (درصد) و سفتربیاکسون (۹۴/۲ درصد) نشان داده‌اند، در صورتی که در مطالعه ما ۵۷/۸ درصد سویه‌ها مقاوم به سفتربیاکسون بودند. مشاهده انتروباکترهای مقاوم به نسل دوم و سوم سفالوسپورین‌ها می‌تواند مرتبط با سویه‌های مقاوم به چنددارو گزارش کرده‌اند (۱۴).
 دو عامل اصلی بروز مقاومت در بیمارستان‌ها شامل: (۱) فشار انتخابی در نتیجه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و (۲) توجه ناکافی به کترل مقاومت هستند. در مطالعه بر روی باکتری‌های گرم منفی ایزووله شده از ICU‌ها ظهور مقاومت به سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف به عنوان یک مشکل اساسی در انتروباکتر و کلبسیلا مطرح شده است. در مطالعه‌ای بین سال‌های

یافته است. شیوع انتروباکتر کلوآکه تولیدکننده **ESBL** در سراسر جهان متفاوت است و از جمله بالاترین شیوع‌ها، در کره جنوبی گزارش شده است که در آن در طی ۱۰ سال سویه‌ها بررسی شده‌اند و ۵۰ درصد آنها **ESBL** مثبت بوده‌اند (۱۶). در گزارشی از تایوان، ۲۲/۶ درصد ایزوله‌های انتروباکتر کلوآکه جداشده در طی ۸ سال دارای ژن‌های کدکننده **ESBL** بوده‌اند (۱۷) و ۱۸). در مطالعه ما ۴۶/۷ درصد ایزوله‌ها **ESBL** مثبت بودند که در مقایسه با گزارش کشورکره جنوبی پایین‌تر بود، اما در مقایسه با تایوان بالاتر است. درصد بالای ایزوله‌های تولیدکننده **ESBL** ممکن است به دلیل فشار انتخابی ایجاد شده در نتیجه استفاده وسیع از داروهای ضدمیکروبی در بیمارستان‌ها باشد. بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های انتروباکتر نشان داد که ۱۵/۶ درصد ایزوله‌ها مقاوم به سپروفلوکسازین، ۳۳/۳ درصد مقاوم به کلرامفینیکل، ۳۰ درصد مقاوم به کوتريموکسازول بودند.

در بین سفالوسپورین‌های نسل سوم، سفتازیدیم (۴۷/۸) درصد حساسیت) مؤثرترین دارو بود. خوشبختانه کارباپن‌ها هنوز اثر بسیار خوبی بر روی ایزوله‌های انتروباکتر در مطالعه ما داشتند و این مهم کمک بسیاری به درمان عفونت‌های ناشی از ایزوله‌های **MDR** می‌کند. از نتایج نگران کننده در مطالعه ما آن بود که ۶/۷ درصد سویه‌ها مقاوم به کلیستین بودند. در مطالعه ما سویه‌های **AmpC** مثبت بهترین پاسخ را به کلیستین و بیشترین مقاومت را به آموکسیسیلین کلاوولانیک اسید نشان دادند. مقاومت به کلیستین می‌تواند در نتیجه گسترش استفاده از کلیستین در بیمارستان‌ها جهت درمان عفونت‌های بسیار مقاوم ناشی از باکتری‌های گرم منفی و بهویژه غیرتخمیرکننده‌ها (نظری اسیتوباکتر و پسودوموناس)

۱۹۹۴-۲۰۰۰ شیوع مقاومت به نسل سوم سفالوسپورین‌ها در انتروباکتر ۳۷ درصد گزارش شده است. در این مطالعه میزان حساسیت به آمیکاسین ۹۸ درصد، توبرامایسین ۹۲ درصد جنتامایسین ۹۲ درصد، پیپراسیلین-تازوپاکدام ۷۳ درصد، سفپیم ۸۴ درصد سفتازیدیم ۶۳ درصد، ایمیپنم ۹۹ درصد و سپروفلوکسازین ۹۰ درصد گزارش شده است (۱۴) و (۱۵). همانند نتایج تحقیق ما در بین داروهای گروه آمینوکلیکوزیدی پاسخ سویه‌ها به آمیکاسین بهتر بوده است، اما درصد مقاومت به این دارو در مطالعه ما بالاتر است؛ به‌طوری که ۳۰ درصد ایزوله‌ها مقاومت نشان دادند و این نشان از افزایش روزافرون مقاومت در کشور ایران دارد. در مقایسه با نتایج مطالعه ذکر شده ایزوله‌های ما مقاومت بالاتری نسبت به اغلب داروها نشان دادند؛ به‌طوری که میزان حساسیت به سفتازیدیم، سفپیم و ایمیپنم به ترتیب ۴۷/۸ درصد، ۶۲/۲ درصد و ۹۵/۶ درصد بود. کینولون‌ها (سپروفلوکسازین) از جمله داروهایی بودند که ایزوله‌ها پاسخ نسبتاً خوبی به آن نشان دادند که در مقایسه با مطالعات دیگر که حساسیت ۹۰ درصد برای سپروفلوکسازین گزارش کرده‌اند، ایزوله‌های ما حساسیت کمتری نشان دادند.

در مطالعه پوتز (Potz) و همکاران ۴۴/۷ درصد ایزوله‌ها دارای **AmpC** بود و ۸۴/۹ درصد ایزوله‌ها حساس به سفالوسپورین‌ها گزارش شده‌اند (۱۶) که در مقایسه با مطالعه ما ۵۶/۶ درصد ایزوله‌ها دارای **AmpC** بودند. در مطالعه لی (Lee) و همکاران ۱۵-۲۵ درصد سویه‌های انتروباکتر کلوآکه تولیدکننده **ESBL** گزارش شده‌اند. پوتز و همکاران درصد حساسیت انتروباکتر کلوآکه را به سفووتاکسیم ۴۹/۳ درصد در سال ۲۰۰۱ تا ۷۱/۴ درصد گزارش نموده‌اند که با گذشت زمان میزان حساسیت سویه‌ها افزایش

باشد که ارگانیسم ژن کدکننده آنزیم را دارد اما به دلیل عدم بیان و یا میزان کم بیان آن در تست‌های فنوتایپی قابل شناسایی نیست.

گونه‌های مختلف انتروباکتر در طبیعت در منابع مختلف از جمله مواد غذایی یافت می‌شوند و بسیاری از این گونه می‌توانند از طریق مواد غذایی به انسان‌ها به ویژه محیط‌های بیمارستانی منتقل شده و ایجاد بیماری کنند. برخی از گونه‌ها مانند انتروباکتر ساکازاکی، انتروباکتر کووانی، انتروباکتر آمینوچنوس، انتروباکتر کلوآکه و انتروباکتر آسبوریه در شیرهای خشک مصرفی وجود دارند و به عنوان پاتوژن‌های فرصت‌طلب می‌توانند در گروه‌های پرخطر از جمله نوزادان نارس، افراد دارای ضعف سیستم ایمنی زمینه‌ای و اکتسابی و افراد مسن سبب بیماری گردند (۲۱-۲۵). انتروباکتر ساکازاکی از پاتوژن‌های بالقوه بیماری‌زا بوده و از مهم‌ترین بیماری‌های ناشی از آن سپسیس و منژیت در نوزادان بستری در بخش NICU است و میزان مرگ و میر در عفونت‌های ناشی از آن بین ۴۰ تا ۸۰ درصد متغیر است (۲۱).

نتیجه گیری

نتایج نشان می‌دهد مقاومت ایزوله‌های انتروباکتر به نسل سوم سفالوسپورین‌ها یک مشکل تهدیدکننده سلامت ملی تبدیل شده است. انجام مطالعات اپیدیمولوژیک کشوری به منظور ارائه برنامه جامع ملی جهت جلوگیری از ظهور و گسترش باکتری‌های مقاوم در کشور حیاتی است. بهتر است استفاده از کاربپن‌ها برای درمان عفونت‌های انتروباکتر برای بیمارانی مدنظر قرار گیرند که دارای عفونت چند میکروبی یا دچار عفونت ناشی از

باشد. این مقاومت ممکن است به دیگر ارگانیسم‌های بیمارستانی نیز منتقل شود.

در مطالعه ملی انجام شده توسط پورعباس و همکاران در سال ۲۰۰۸-۲۰۰۹ در ایران بر روی باکتری‌های جدایشده از کشت خون و دیگر مایعات استریل بدن، همه ایزوله‌های انتروباکتر به ایمی‌پنم حساس بوده و ۸۷ درصد آنها به سپروفلوکسازین حساسیت نشان داده‌اند که در مقایسه، در مطالعه ما میزان حساسیت در طی سال‌های اخیر نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها کاهش پیدا کرده بود، به طوری که نتایج مطالعه ما مشخص نمود میزان حساسیت به ایمی‌پنم و سپروفلوکسازین به ترتیب به ۹۵/۶ و ۸۴/۴ کاهش یافته است (۱۹).

در تحقیق ما ۷/۸ درصد ایزوله‌ها دارای ژن SHV کدکننده آنزیم بتالاکتماماز بودند. در مطالعه تاون (Towne) و همکاران بر روی شناسایی بتالاکتماماز وسیع‌الطیف تیپ SHV در گونه‌های انتروباکتر گزارش شده ۸/۷ درصد ایزوله‌ها دارای ژن SHV بوده‌اند (۲۰). مقایسه نتایج نشان می‌دهد که درصد شیوع نسبتاً نزدیکی بین گونه‌های انتروباکتر مورد بررسی در این دو مطالعه وجود دارد. در داده‌های مطالعه ما ۳/۳ درصد ایزوله‌ها علاوه بر اینکه ESBL مثبت بودند، دارای ژن SHV نیز بودند. این نشان می‌دهد که درصد بسیاری پایینی از مقاومت انتروباکترها به نسل سوم سفالوسپورین‌ها به دلیل ژن SHV کدکننده آنزیم بتالاکتماماز مربوطه می‌باشد و احتمالاً ژن‌های کدکننده آنزیم‌های دیگر نقش در بروز مقاومت به بتالاکتمامها را دارند. نتیجه دیگری که باید بدان توجه داشت آن است که تنها نزدیک به نیمی از سویه‌های دارای ژن SHV در واقع ESBL مثبت بودند و این می‌تواند بدان دلیل

سپاس و قدردانی

از همه کسانی که در به انجام رساندن این مطالعه ما را یاری نموده‌اند نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

تضاد منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسنندگان بیان نشده است.

ایزوله‌های مقاوم به دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها هستند تا کارباپن‌ها به عنوان راهکار نهایی جهت درمان حفظ شوند. عدم رشد مجدد برخی ایزوله‌های ذخیره‌شده از جمله محدودیت‌هایی بود که در این مطالعه با آن مواجه بودیم.

References:

- Wilberger MS, Anthony KE, Rose S, et al. Beta-Lactam antibiotic resistance among Enterobacter spp. Isolated from infection in animals. *Advan Microbiol* 2012; 2(2): 129-37.
- v Dijk Y, Bik EM, Hochstenbach-Vernooij S, et al. Management of an outbreak of Enterobacter cloacae in a neonata unit using simple preventive measures. *J Hosp Infect* 2002; 51(1): 21-6.
- Liu CP, Wang NY, Lee CM, et al. Nosocomial and community-acquired Enterobacter cloacae bloodstream infection: risk factors and prevalence of SHV-12 in multiresistant isolates in a medical centre. *J Hosp Infect* 2004; 58(1): 63-77.
- Soltani J, Poorabbas B, Miri N, et al. Health care associated infections, antibiotic resistance and clinical outcome: A surveillance study from Sanandaj, Iran. *World J Clin Cases* 2016; 4 (3): 63-70.
- Anvarinejad M, Pouladfar G, Japoni A, et al. Isolation and Antibiotic Susceptibility of the Microorganisms Isolated from Diabetic Foot Infections in Nemazee Hospital, Southern Iran. *J Pathog* 2015; 2015: 328796.
- M'Zali FH, Heritage J, Gascoyne-Binzi DM, et al. Transcontinental importation into the UK of Escherichia coli expressing a plasmid-mediated AmpC-type beta-lactamase exposed during an outbreak of SHV-5 extended-spectrum beta-lactamase in a Leeds hospital. *J Antimicrob Chemother* 1997; 40(6): 823-31.
- Anvarinejad M, Pouladfar GR, Pourabbas B, et al. Detection of Salmonella spp. with the BACTEC 9240 Automated Blood Culture System in 2008-2014 in Southern Iran (Shiraz): Biogrouping, MIC, and Antimicrobial Susceptibility Profiles of Isolates. *Jundishapur J Microbiol* 2016; 9 (4): e26505.
- Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: enterobacteriaceae. *Am J Med* 2006; 119(6 Suppl 1): S20-8.
- Manzur A, Tubau F, Pujol M, et al. Nosocomial outbreak due to extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacter cloacae in a cardiothoracic intensive care unit. *J Clin Microbiol* 2007; 45(8): 2365-9.
- Schwaber MJ, Graham CS, Sands BE, et al. Treatment with a broad-spectrum cephalosporin versus piperacillin-tazobactam and the risk for isolation of broad-spectrum cephalosporin-resistant Enterobacter species. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47(6): 1882-6.
- Kang CI, Kim SH, Park WB, et al. Bloodstream infections caused by Enterobacter species: predictors of 30-day mortality rate and impact of broad-spectrum cephalosporin resistance on outcome. *Clin Infect Dis* 2004; 39(9): 812-8.
- Anvarinejad M, Pouladfar GR, Pourabbas B, et al. Detection of Salmonella spp. with the BACTEC 9240 Automated Blood Culture System in 2008-2014 in Southern Iran (Shiraz): Biogrouping, MIC, and

- Antimicrobial Susceptibility Profiles of Isolates. *Jundishapur J Microbiol* 2016; 9(4): e26505.
- 13.Briñas L, Zarazaga M, Sáenz Y, et al. Beta-Lactamases in ampicillin-resistant *Escherichia coli* isolates from foods, humans, and healthy animals. *Antimicrob Agents Chemotherapy* 2002; 46(10): 3156-63.
- 14.Chen HL, Lu JH, Wang HH, et al. Clinical analysis of *Enterobacter* bacteremia in pediatric patients: a 10-year study. *J Microbiol Immunol Infect* 2014; 47(5): 381-6.
- 15.Mardaneh J, Soltan Dallal MM, Taheripoor M, et al. 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; 47(5): 381-6.
- 16.Potz NA, Hope R, Warner M, et al. Prevalence and mechanisms of cephalosporin resistance in Enterobacteriaceae in London and South-East England. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58(2): 320-6.
- 17.Pai H, Hong JY, Byeon JH, et al. High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing strains among blood isolates of *Enterobacter* spp. collected in a tertiary hospital during an 8-year period and their antimicrobial susceptibility patterns. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(8): 3159-61.
- 18.Lee CC, Lee NY, Yan JJ, et al. Bacteremia due to extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacter cloacae*: role of carbapenem therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54(9): 3551-6.
- 19.Poorabbas B, Mardaneh J, Rezaei Z, et al. Nosocomial Infections: Multicenter surveillance of antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* and Gram negative rods isolated from blood and other sterile body fluids in Iran. *Iranian J Microbiol* 2015; 7: 127-135.
- 20.Towne TG, Lewis JS, Herrera M, et al. Detection of SHV-type extended-spectrum beta-lactamase in *Enterobacter* isolates. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 298-299.
- 21.Ahmadi K, Farajzadeh Sheikh A, Mardaneh J, et al. Detection of *Enterobacter sakazakii* in neonatal sepsis by PCR on 16S ribosomal RNA. *Iran South Med J* 2014; 17 (3): 272-279.
- 22.Mardaneh J, Soltan Dallal MM, Taheri Poor M. Isolation and determination antimicrobial susceptibility pattern of *Enterobacter cloacae* strains isolated from consumed powdered infant formula milk in NICU ward. *Iran South Med J* 2014; 17 (5): 907-915.
- 23.Mardaneh J, Soltan Dallal MM. Isolation and Identification *Enterobacter asburiae* from Consumed Powdered Infant Formula Milk (PIF) in the Neonatal Intensive Care Unit (NICU). *Acta Med Iran* 2016; 54 (1): 39-43.
- 24.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 Pediatr* 2014; 24 (3): 261-6.
- 25.Mardaneh J, Soltan Dallal M, Taheri Poor M. Isolation and determination antimicrobial susceptibility pattern of *Enterobacter amnigenus* biogroup 1 strains isolated from consumed powdered infant formula milk in NICU ward. *Iran South Med J* 2015; 18(1): 46-53.

Original Article

Identification of ESBL-producing and *blaSHV* gene Harboring *Enterobacter* spp. Isolated from Bloodstream Infections of Hospitalized Patients During 10 Years in South of Iran (Shiraz)

S. Nematolahi¹, A. Mosadegh^{2*}, J. Mardaneh³, B. Poorabbas⁴

¹ Department of Microbiology, School of Medicine, International Campus, Yazd Shahid Sadoghi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

² Department of Microbiology, School Member, Yazd Shahid Sadoghi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

³ Department of Microbiology, School of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran

⁴ Professor Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Nemazee Hospital, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

(Received 24 Jun , 2015

Accepted 6 Sep, 2015)

Abstract

Background: Multidrug resistance is emerging among gram negative bacteria that cause hospital infections or community acquired around the world. The aims of this study were (1) determination of antibiotic susceptibility profile of *Enterobacter* spp. isolates recovered from blood, (2) phenotypic identification of ESBL and AmpC-producing isolates, (3) identify MDR strains, and (4) identification isolates harboring *blaSHV* gene using PCR method.

Materials and Methods: In this cross-sectional study, 90 isolates of *Enterobacter* spp. isolated from blood stream infection from patients admitted to hospitals in Shiraz using BACTEC 9240 automated system during 10 years (2004-2014). The isolates again were identified by using embedded biochemical tests in the Enterobacteriaceae API-2OE diagnostic system. According to proposed protocol by CLSI (2014), standard disc diffusion method and DDST phenotypic test were used for antibiotic susceptibility test, and identification of ESBL-producing strains, respectively. PCR molecular method was used to identify *blaSHV* gene in strains.

Results: In this study, as observed, meropenem (98.9%), imipenem (95.6%) and colistin (93.3%) were the most effective antibiotics against isolates. Isolates showed the best response to ceftazidime (47.8%) and ceftriaxone (42.2%), respectively, among the third generation of cephalosporins which were investigated. Results showed that 11.1% of isolates were MDR. 15.5% isolates were positive ESBL and positive AmpC, simultaneously. As revealed, 11.1% of isolates were MDR. The results of PCR to search for *blaSHV* gene in *Enterobacter* isolates revealed that 7.8% of the strains harboring this gene.

Conclusion: Results showed that the resistance of *Enterobacter* isolates to the third generation of cephalosporins has become a national health-threatening problem. Epidemiologic studies are crucial in order to presentation of comprehensive national program to preventing emergence and dissemination of resistant bacteria in the country. We believe that carbapenems should be used for the treatment of strains resistant to other antibiotics in order to preservation of carbapenems as strategies for the treatment of *Enterobacter* spp.

Key words: Blood circulation infection, *Enterobacter* spp., antibiotic susceptibility, ESBL-producing, *blaSHV* gene.

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as: Nematolahi S, Mosadegh A, Mardaneh J, Poorabbas. B Identification of ESBL-producing and *blaSHV* gene Harboring *Enterobacter* spp. Isolated from Bloodstream Infections of Hospitalized Patients During 10 Years in South of Iran (Shiraz). Iran South Med J 2016; 19(4): 536-548

Copyright © 2016 Nematolahi, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

*Address for correspondence: Department of Microbiology, Faculty Member, Yazd Shahid Sadoghi University of Medical Sciences, Yazd, Iran. Email: mosadegh14@yahoo.com.