دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال هجدهم، شماره ۱، صفحه ۵۳ - ۴۶ (فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۴)
ISMJ 2015; 18(1): 46-53

جداسازی و تعیین پروفایل حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های انتروباکتر آمنیجنوس بیوگروپ ۱ جداشده از شیرهای خشک مصرفی نوزادان در بخش NICU

جلال مردانه [۱]، محمدمهدی سلطان دلال [۲ و ۳*]، 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 میکروب‌شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۴] دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات اراک

(دریافت مقاله: ۹۲/۵/۳۰- پذیرش مقاله: ۹۲/۸/۱۱)

چکیده

زمینه: انتروباکتر آمنیجنوس، باسیلی گرم منفی، فاقد اسپور، متحرک و عضوی از خانواده انتروباکتریاسیه است. این ارگانیسم، پاتوژن فرصت‌طلب مهمی برای انسان محسوب می‌گردد و در افراد مختلف به ویژه افراد دارای نقص سیستم ایمنی و نوزادان نارس و در تمام گروه‌های سنی ایجاد بیماری می‌نماید. هدف از این مطالعه جداسازی سویه‌های انتروباکتر آمنیجنوس از شیرهای خشک مصرفی نوزادان بستری در NICU و تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی این ایزوله‌هاست.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی مقطعی، تعداد ۱۲۵ نمونه پودر شیر خشک که جهت تغذیه نوزادان در بخش مراقبت‌های ویژه نوزادان (NICU) بیمارستان‌ها استفاده می‌شد، مورد تحقیق قرار گرفتند. جداسازی و شناسایی میکروارگانیسم بر اساس پروتکل استاندارد اداره غذا و دارو (FDA) انجام شد. تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جداشده با روش استاندارد دیسک دیفیوژن بر اساس پروتکل پیشنهادی سازمان استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI 2011) صورت پذیرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که از ۱۲۵ نمونه پودر شیر خشک مورد بررسی، ۲ نمونه (۱/۶ درصد) از نظر آلودگی به انتروباکتر آمینجنوس بیوگروپ ۱ مثبت بودند. سویه‌های ایزوله شده به اغلب آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در بالین حساس بودند، اما همه به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و کاربنی‌سیلین مقاوم بودند.

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

واژگان کلیدی: بخش مراقبت‌های ویژه نوزادان، شیرهای خشک، انتروباکتر آمنیجنوس بیوگروپ ۱، حساسیت آنتی‌بیوتیکی

* تهران، گروه پاتوبیولوژی، بخش میکروب‌شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

E-mail : Soltandalall@yahoo.com

مقدمه

گونه‌های انتروباکتر عاملین شایع عفونت‌های بیمارستانی در انسان‌ها هستند (۱). انتروباکتر آمنیجنوس، باسیلی گرم منفی، هوازی و متحرک است که در خانواده انتروباکتریاسیه قرار دارد (۲).

ایزارد (Izard) و همکاران در سال ۱۹۸۱ سویه‌هایی از انتروباکتر را شرح دادند که پیش از آن تحت عنوان انتروباکتر H3 نامیده می‌شدند و آن را به نام انتروباکتر آمنیجنوس (Enterobacter amnigenus) نام‌گذاری کردند (۳ و ۴). این ارگانیسم‌ها از آب و نمونه‌های بالینی مختلف نظیر مجرای تنفسی، زخم، خون و مدفوع ایزوله شده است و می‌تواند سبب سپسیس و سایر عفونت‌ها در انسان گردد (۲ و ۵). در سال ۲۰۰۶ یک طغیان اندوفتالمیت پس از جراحی کاتاراکت ناشی از انتروباکتر آمنیجنوس گزارش شد (۶). جداسازی ارگانیسم‌های غیرمعمول از قبیل انتروباکتر آمنیجنوس از خون بیماران فاقد علائم بالینی سپسیس باید شک به باکتریمی کاذب (Pseudobacteremia) را افزایش دهد و سیستم نظارت کشت میکروبی باید باکتریمی کاذب را در اوایل عفونت شناسایی نماید (۷). همچنین این ارگانیسم از نمونه‌های شیر مورد استفاده جهت تغذیه نوزادان و پودر میوه‌ها نیز جدا شده است (۸).

سویه‌های انتروباکتر آمنیجنوس مقاوم به چند دارو که ژن blaKPC-2 و rmtB را روی یک پلاسمید با خود حمل می‌نمایند، همچنین انتروباکترهای مقاوم به کاربا‌پنم‌ها و آمینوگلیکوزیدها گزارش شده‌اند (۱۱). بتالاکتامازهای کد شونده توسط کروموزوم برای سویه‌های انتروباکتر آمنیجنوس شرح داده شده است (۵). انتروباکتر آمنیجنوس به آمینوپنی‌سیلین‌ها و نسل اول سفالوسپورین‌ها مانند سفازولین مقاوم می‌باشند (۱۲ و ۱۳). سویه‌هایی از انتروباکتر آمنیجنوس حمل‌کننده همزمان ژن‌های مختلف کد کننده مقاومت شامل blaKPC-2، blaTEM-1، blaHSV-12، blaCTX-M-14، blaCTX-M-14 و rmtB گزارش شده است (۱۱).

انتروباکتر آمنیجنوس بیوگروپ ۱ به‌دلیل اینکه پاتوژن فرصت‌طلب و مقاوم به برخی آنتی‌بیوتیک‌هاست در ایجاد بیماری‌های مختلف در نوزادان بستری در بخش مراقبت‌های ویژه نوزادان (NICU) دارای اهمیت است. نوزادان بستری در NICU دارای عوامل خطرساز زمینه‌ای از قبیل تولد پیش از موعد، بیماری زمینه‌ای، عدم تکامل و نقص سیستم ایمنی می‌باشند لذا مستعد ابتلا به عفونت ناشی از این ارگانیسم هستند. بنابراین بررسی منبع آلودگی نوزادان به این ارگانیسم و یافتن منابع آلودگی دارای اهمیت بسزایی است، از این رو هدف از این مطالعه جداسازی سویه‌های انتروباکتر آمنیجنوس بیوگروپ ۱ از شیرهای خشک مصرفی نوزادان بستری در NICU و تعیین پروفایل حساسیت آنتی‌بیوتیکی این ایزوله‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در طی این مطالعه‌ی مقطعی که از شهریور ۱۳۹۰ تا مرداد ۱۳۹۱ طی مدت یک سال انجام شد، تعداد ۱۲۵ نمونه پودر شیر خشکی که بطور متداول جهت تغذیه نوزادان در بخش مراقبت‌های ویژه (NICU) بیمارستان‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفت از طریق داروخانه‌های سطح شهر به‌صورت تصادفی و از برندهای مختلف تجاری انتخاب شدند. نمونه‌ها پس از توضیح هدف مطالعه برای داروخانه‌ها و کسب رضایت شفاهی آگاهانه از هر یک از مسئولین مربوطه جمع‌آوری شد. نمونه‌ها به‌منظور بررسی آلودگی

میکروب‌شناسی به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران منتقل شدند. در آزمایشگاه، همه نمونه‌ها کدگذاری و اطلاعات لازمه در پرسشنامه‌های تنظیم‌شده وارد و پس از ضدعفونی کامل درب ظرف‌های پودر شیر خشک با الکل ۷۰ درصد، نمونه‌برداری در شرایط کاملاً استریل انجام شد.

به منظور جداسازی و شناسایی میکروب‌شناسی از پروتکل استاندارد FDA (FDA Method) (۱۴ و ۱۵) که شامل چهار مرحله اصلی است، استفاده شد. بر اساس این پروتکل در مرحله اول یا مرحله Pre-enrichment، از هر نمونه شیر خشک به میزان 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 انتروباکتریاسیه (Enterobacteriaceae enrichment broth) از کمپانی Scharlau اسپانیا 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 Bile Glucose Agar= VRBG Agar) و مک کانکی آگار از کمپانی Scharlau اسپانیا به‌صورت خطی کشت 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 تست‌های تشخیصی میکروب‌شناسی شامل رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، اکسیداز و تولید پیگمان بر روی محیط تریپتیک سوی آگار (Tryptic Soy Agar) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت و تست‌های بیوشیمیایی سیمون سیترات، آگار آهن سه قندی (TSI)، اندول، حرکت، تولید گاز H2S، متیل رد (MR)، وگس 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.

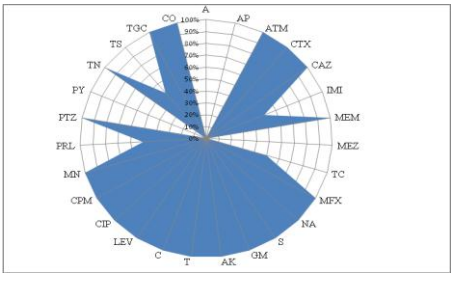
به منظور تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی، با استفاده از روش استاندارد دیسک دیفیوژن (Disk Diffusion Method) بر اساس پروتکل ارائه‌شده توسط سازمان استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI 2011) (۱۶) و استفاده از دیسک‌های ۲۷ آنتی‌بیوتیک کمپانی MAST انگلستان حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جداشده انتروباکتر آمنیجنوس بیوگروپ ۱ به تتراسایکلین (T)، مینوسایکلین (MN)، کوتریموکسازول (TS)، کلرآمفنیکل (C)، کلیستین (CO)، نالیدیکسیک اسید (NA)، ایمی‌پنم (IMI)، مروپنم (MEM)، آزترونام (ATM)، سفوتاکسیم (CTX)، سفتازیدیم (CAZ)، سفپیم (CPM)، آمپی‌سیلین (AP)، کاربنی‌سیلین (PY)، پیپراسیلین (PRL)، پیپراسیلین-تازوباکتام (PTZ)، تیکارسیلین (TC)، مزلوسیلین (MEZ)، آموکسی‌سیلین (A)، استرپتومایسین (S)، جنتامایسین (GM)، آمیکاسین (AK)، توبرامایسین (TN)، سیپروفلوکساسین (CIP)، موکسی‌فلوکساسین (MFX)، تیگسیکلین (TGC) و لووفلوکساسین (LEV) که آنتی‌بیوتیک‌های متداول

مؤثر بر علیه باکتری‌های گرم منفی می‌باشند مورد مطالعه قرار گرفت.

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

یافته‌ها

یافته‌های حاصل از این مطالعه نشان داد از ۱۲۵ نمونه‌ی پودر شیر خشک مورد بررسی، ۲ نمونه (۱/۶ درصد) از نظر آلودگی به باکتری انتروباکتر آمنیجنوس بیوگروپ ۱ مثبت بودند. آنالیز نتایج تست تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که تمام سویه‌های ایزوله شده به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و کاربنی‌سیلین مقاوم بودند. با این وجود سویه‌های انتروباکتر آمنیجنوس بیوگروپ ۱ جداشده از نمونه‌های شیر خشک به اغلب آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر بر علیه باکتری‌های گرم منفی خانواده انتروباکتریاسیه حساس بودند (نمودار ۱).



نمودار ۱) الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های انتروباکتر آمنیجنوس بیوگروپ ۱ جداشده از نمونه‌های شیر خشک مصرفی نوزادان بستری در NICU

بحث

انتروباکتر آمنیجنوس باسیلی گرم منفی، متحرک و فاقد اسپور از خانواده انتروباکتریاسیه است و در طبیعت در همه جا پراکنده می‌باشد (۱۷) و از پودرهای شیرخشک مورد استفاده جهت تغذیه نوزادان، پودرهای میوه‌ها، آب و نیز نمونه‌های بالینی مختلف از قبیل خلط، مجرای تنفسی فوقانی، زخم، خون و مدفوع ایزوله شده است (۱۱ و ۱۸). این ارگانیسم سبب سپتی‌سمی کشنده در انسان می‌گردد (۱۹).

در نتایج حاصل از مطالعه ما ۱/۶ درصد پودرهای شیر خشک مصرفی نوزادان در بخش NICU به باکتری انتروباکتر آمنیجنوس بیوگروپ ۱ آلوده بودند. در نقاط مختلف جهان از جمله در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه مطالعات متعددی روی آلودگی پودرهای شیر خشک مورد استفاده جهت تغذیه نوزادان انجام گرفته است و باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسیه از جمله انتروباکتر آمنیجنوس بیوگروپ ۱ با درصدهای متفاوت گزارش شده است (۶، ۱۰-۸). اغلب 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 تحقیقاتی است که در زمینه آلودگی‌های شیر خشک با حجم بالای نمونه انجام شده است. در نتایج حاصل از تست تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی مشخص شد که سویه‌های جداشده به اغلب آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در بالین از جمله تتراسایکلین، کلرآمفنیکل، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، سفپیم، ایمی‌پنم و مروپنم حساس می‌باشند، اما ایزوله‌ها به برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله آموکسی‌سیلین و کاربنی‌سیلین کاملاً مقاوم (۱۰۰ درصد) بودند.

در مطالعات انجام شده توسط محققین در نقاط دیگر جهان انتروباکتر آمنیجنوس به آمینوپنی‌سیلین‌ها و نسل اول سفالوسپورین‌ها مانند سفازولین مقاوم گزارش شده است (۱۲)، همچنین انتروباکتر آمنیجنوس مقاوم

به چند دارو که ژن blaKPC-2 و rmtB را روی یک پلاسمید با خود حمل می‌نمایند گزارش شده است (۱۲ و ۱۳). همچنین در مطالعه‌ای، انتروباکتر آمنیجنوس به کاربانپم‌ها و آمینوگلیکوزیدها نیز مقاوم بوده است (۱۲)، علاوه بر این سویه‌های انتروباکتر آمنیجنوس حمل کننده همزمان ژن‌های blaKPC-2، blaTEM-1، blaHSV-12، blaCTX-M-14، blaCTX-M-14 و rmtB گزارش شده است (۱۱). در مطالعه‌ای دیگر بتالاکتامازهای کد شونده توسط کروموزوم برای سویه‌های انتروباکتر آمنیجنوس شرح داده شده است (۵).

حساس بودن سویه‌های ایزوله شده از مطالعه ما نویدبخش است اما باید توجه داشت که انتروباکتر آمنیجنوس همانند بسیاری دیگر از اعضاء انتروباکتریاسیه می‌تواند بسیاری از ژن‌های کد کننده مقاومت حمل شونده بر روی پلاسمیدها و دیگر عناصر کروموزومی متحرک را به آسانی کسب نماید، از سویی دیگر هنگامی که این باکتری از راه‌های مختلف نظیر شیرهای خشک مصرفی نوزادان وارد بیمارستان می‌شود در نوزادان بستری در بخش مراقبت‌های ویژه نوزادان که از نظر سیستم ایمنی ضعیف بوده و شرایط زمینه‌ای لازم جهت عفونت‌زایی این ارگانیسم‌های فرصت‌طلب پاتوژن را دارند کلونیزه می‌گردند و ایجاد بیماری می‌کند. از طرف دیگر مجاورت این باکتری با ارگانیسم‌های پاتوژن و مقاوم به داروی موجود در محیط بیمارستان نظیر (کلبسیلا پنومونیه، اشریشیاکلی، پسودوموناس آئروژینوزا، اسینتوباکتر) سبب کسب مقاومت و ژن‌های بیماری‌زایی از این ارگانیسم‌ها می‌شود. انتروباکتر آمنیجنوس 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. در غذای حیوانات جهت ترغیب و تحریک رشد از آنتی‌بیوتیک‌های متعدد 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 ضد میکروبی مشابه در انسان جهت درمان بیماری‌های بالینی استفاده می‌شود. همچنین در نتیجه گسترش استفاده از 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 (۲۰). مستندات علمی زیادی وجود دارد که ارگانیسم‌های مقاوم می‌توانند از طریق زنجیره‌ی 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 از طریق تماس مستقیم یا محصولات غذایی با منشاء حیوانی به انسان‌ها منتقل شوند (۲۰ و ۲۱).

بررسی‌های گسترده و با دوره زمانی چندین ساله بر روی نمونه‌های شیر خشک مصرفی نوزادان به ویژه در بخش NICU که نوزادان بستری در این بخش معمولاً دارای فاکتورهای خطر متعدد (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 (۲۵-۲۲).

نتیجه‌گیری

انتروباکتر آمنیجنوس بیوگروپ ۱ از جمله باکتری‌های فرصت‌طلب است که به‌عنوان یک باکتری در همه جا حاضر، در محیط‌های بیمارستانی سبب ایجاد بیماری در بیماران بستری در بیمارستان می‌شود. این ارگانیسم‌ها به‌دلیل دارا بودن عوامل ویرولانس و کسب مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی به چندین دارو، خطر بالقوه در عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شوند. از سوی دیگر اضافه نمودن عوامل ضدمیکروبی به غذای حیوانات جهت ترغیب و تحریک رشد و افزایش فرآورده‌های حیوانی و سودهای اقتصادی بالاتر، خطر بروز مقاومت دارویی را افزایش می‌دهد. آگاهی از گونه‌های انتروباکتر آمنیجنوس دارای اهمیت فراوانی است، زیرا در صورت عدم کنترل ارگانیسم‌های تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف، ممکن است این باکتری‌ها از طریق شیر، پودرهای شیر خشک و محصولات آن به جامعه انسانی منتقل گردند. بررسی آلودگی غذاهای نوزادان از نظر این ارگانیسم‌های پاتوژن نیازمند گنجاندن اصول بررسی آلودگی 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.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: 812-8.
2.Farmer J, Davis BR, Hickman-Brenner FW, et al. Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. J Clin Microbiol 1985; 21: 46-76.
3.Gavini F, Ferragut C, Lefe´bvre B, et al. Etude taxonomique d'ente´robacte´ries appartenant ou ap-parente´es au genre Enterobacter. Ann Microbiol.(Inst Pasteur) B 1976; 127: 317–35.
4.Izard D, Gavini F, Trinel PA, et al. Deoxy-ribunucleic acid relatedness between Enterobacter cloacae and Enterobacter amnigenus sp. nov. Int J Syst Bacteriol 1981; 31: 35–42.
5.Stock I, Wiedemann B. Natural antibiotic susceptibility of *Enterobacter amnigenus*, *Enterobacter cancerogenus*, *Enterobacter gergoviae* and *Enterobacter sakazakii* strains. Clin Microbiol Infect 2002; 8: 564-78.
6.Korah S, Braganza A, Jacob P, et al. An «epidemic» of post cataract surgery endophthalmitis by a new organism. Indian J Ophthalmol 2007; 55: 464-6.
7.Kim DM, Jang SJ, Neupane GP, et al. *Enterobacter nimipressuralis* as a cause of pseudobacteremia. BMC Infect Dis 2010; 10: 315.
8.Kagkli DM, Vancanneyt M, Vandamme P, et al. Contamination of milk by enterococci and coliforms from bovine faeces. J Appl Microbiol 2007; 103: 1393-405.
9.Sani NA, Yi L. Enterobacteriaceae, *Cronobacter* (*Enterobacter*) *sakazakii* and Microbial Population in Infant Formula Products in the Malaysian Market. Sains Malaysiana 2011; 40: 345-51.
10.Stephan R, Van Trappen S, Cleenwerck I, et al. *Enterobacter pulveris* sp. nov. isolated from fruit powder, infant formula and an infant formula production environment. Int J Syst Evol Microbiol 2008; 58: 237-41.

11.Sheng JF, Li JJ, Tu S, et al. Bla KPC and rmtB on a single plasmid in *Enterobacter amnigenus* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from the same patient. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2012; 31:1585-91.
12.Stock I, Wiedemann B. Natural antibiotic susceptibility of *Enterobacter amnigenus, Enterobacter cancerogenus, Enterobacter gergoviae* and *Enterobacter sakazakii* strains. Clin Microbiol Infect 2002; 8: 564-78.
13.Tamura K, Sakazaki R, Kosako Y, et al. Leclercia adecarboxylata Gen. Nov., Comb. nov., formerly known as *Escherichia adecarboxylata*. Curr Microbiol 1986; 13:179-84.
14.Anonymus: U.S. Food and Drug Administration, 2002. Isolation and enumeration of *Enterobacter sakazakii* from dehydrated powdered infant formula. (Accessed September 19, 2003, at http://www.cfsan.fda.gov/~comm/mmesakaz.html)
15.Anonymus: U.S. Food and Drug Administration, 2002. Questions and answers on method for *E. sakazakii* in powdered infant formula. (Accessed October 10, 2003, at http://www.cfsan.fda.gov/~comm/mmesakqa. Html.)
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-first Informational Supplement M100-S21. CLSI, Wayne, PA, USA, 2011.
17.Abbott SL. Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and other Enterobacteriaceae. Manual of clinical microbiology, 8th ed American Society for Microbiology, Washington, DC 2003:684-700.
18.Cabral JP. Water microbiology. Bacterial pathogens and water. Int J Environ Res Public Health 2010; 7: 3657-703.
19.Jan D, Berlie C, Babin G. Fatal posttransfusion *Enterobacter amnigenus* septicemia. Presse Med 1999; 28: 965.
20.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.
21.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.
22.Mardaneh J, Soltan Dallal M, Taheri Poor M. Isolation and determination antimicrobial susceptibility pattern of *Enterobacter cloacae* strains isolated from consumed powdered infant formula milk in NICU ward. ISMJ 2014; 17 (5):907-15.
23.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 (3) :272-79.
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):261-66.
25.Mardaneh J, Soltan Dallal MM, 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.

Original Article

Isolation and determination antimicrobial susceptibility pattern of *enterobacter amnigenus* biogroup 1 strains isolated from consumed powdered infant formula milk in NICU ward

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

[1] Prof. 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] Islamic Azad University, Science and Research branch, Arak

(Received 21 Aug, 2013 Accepted 2 Nov, 2013)

Abstract

Background: *Enterobacter amnigenus* biogroup 1 is a non-sporeforming, rod-shaped, gram-negative bacterium, within the Enterobacteriaceae family. It is opportunistic pathogen and cause disease humans, especially in premature and immunocompromised persons. The aim of this study was to isolation and determination antimicrobial susceptibility pattern of *Enterobacter amnigenus* biogroup 1 strains isolated from consumed powdered infant formula (PIF) milk in Neonatal Intensive Care Unit (NICU) ward.

Materials and Methods : In this cross-sectional study, total 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 by using the standard disc diffusion method based on CLSI (2011) recommendations.

Results: In this study, *Enterobacter amnigenus* biogroup 1 was isolated from 2 (1.6%) of 125 powdered infant formula milk samples. The results showed that isolated strains are sensitive to most antibiotics. All isolates were resistant to amoxicillin and carbenicillin.

Conclusion: Contamination of powdered infant formula (PIF) samples could have occurred during different steps. It is imperative to prepare the powdered infant formula milk foods according to the manufacturer's instruction and in an aseptic condition. Contamination of powdered infant formula only could be reduced or prevented by monitoring the critical control points and taking appropriate action during the processing.

Key words: Neonatal Intensive Care Unit (NICU), Powdered infant formula milk, *Enterobacter amnigenus* biogroup 1, Antibiotical susceptibility.

***Address for correspondence**: Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, IRAN. E-mail: Soltandalall@yahoo.com