دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال نوزدهم، شماره ۴، صفحه ۵۴۸ - ۵۳۶ (مهر و آبان ۱۳۹۵)
Iran South Med J 2016;19(4): 536-548

شناسایی ایزوله‌های انتروباکتر تولیدکننده ESBL و دارای ژن blaSHV جداشده 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 صدوقی یزد، واحد بین‌الملل، یزد، ایران
[۲] گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی 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 ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی یا اکتسابی از جامعه در حال ظهور است. اهداف این مطالعه شامل: (۱) تعیین پروفایل حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های انتروباکتر جداشده از خون، (۲) شناسایی فنوتایپی سویه‌های تولیدکننده ESBL و AmpC، (۳) شناسایی سویه‌های MDR، (۴) شناسایی ایزوله‌های دارای ژن *bla*SHV با استفاده از روش PCR، بودند.

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

یافته‌ها: در این مطالعه مروپنم (۹۸/۹ درصد) و ایمی‌پنم (۹۵/۶ درصد) و کلیستین (۹۳/۳ درصد) مؤثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها بر علیه ایزوله‌ها 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) 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 انجام PCR به منظور جستجوی ژن *bla*SHV در ایزوله‌های انتروباکتر مشخص کرد که ۷/۸ درصد سویه‌ها دارای این ژن بوده‌اند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد مقاومت ایزوله‌های انتروباکتر به نسل سوم سفالوسپورین‌ها 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 کارباپنم‌ها به عنوان راهکار نهایی جهت درمان گونه‌های انتروباکتر، کارباپنم‌ها باید برای درمان ایزوله‌های مقاوم به دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده شوند.

واژگان کلیدی: عفونت گردش خون، انتروباکتر، حساسیت آنتی‌بیوتیکی، تولید ESBL، ژن *bla*SHV

[*] یزد، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
E-mail: mosadegh14@yahoo.com

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 کلوآکه‌آ به‌عنوان 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 کتترهای قرار داده شده در عروق مرکزی هستند. طغیان‌های بیمارستانی عفونت ناشی از انتروباکتر کلوآکه‌آ 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. بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف وابسته به پلاسمید اولین بار در اواسط سال ۱۹۸۰ گزارش شدند (۳).

هم‌اکنون در سراسر جهان مقاومت چندداروی در بین باکتری‌های گرم منفی ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی یا اکتسابی از جامعه در حال ظهور است. یکی از مهم‌ترین مقاومت‌های در حال ظهور در انتروباکتریاسه، مقاومت به بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف است که عمدتاً مرتبط با تولید بتالاکتامازهای مهارشونده توسط کلاوولانیک اسید است. انتروباکتر به‌وسیله تولید بتالاکتامازهای 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 سفوتاکسیم، سفتریاکسون، سفتازیدیم) و مونوباکتام‌ها (یعنی آزترونام) را به باکتری اهدا کند (۱). انواعی از ESBLها در انتروباکتریاسه گزارش شده است (۴). شناسایی ESBLها به منظور غربالگری بیماران و به دنبال آن به‌کار 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).

بتالاکتامازهای 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 به‌وجود 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 ایزوله‌هایی که تولید فراوان AmpC دارند میکروبیولوژیست‌ها باید دقت کنند که فنوتیپ تولیدکننده AmpC را از تولید

ESBL افتراق دهند، 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 کلوآکهآ نسبت به سایر تولیدکننده‌های ESBL نظیر کلبسیلا و اشریشیاکلی وجود دارد (۹).

گونه‌های انتروباکتر به طور فزاینده‌ای 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 ومیر 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 جداشده از خون در طی ۱۰ سال، (۲) شناسایی فنوتایپی سویه‌های تولیدکننده ESBL و AmpC، (۳) شناسایی سویه‌های MDR، (۴) 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 (۱۳۹۳-۱۳۸۴) به‌صورت 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 لئوفلیزه 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 ۲±۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸-۱۶ 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، رنگ‌آمیزی گرم، اکسیداز، کاتالاز، DNase و حرکت مورد شناسایی اولیه قرار گرفتند و به دنبال آن با استفاده از تست‌های

بیوشیمیایی تعبیه 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 استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI) با استفاده از روش استاندارد دیسک دیفیوژن وضعیت پاسخ ایزوله‌ها به ۱۷ آنتی‌بیوتیک (ساخت شرکت Rosco در کشور دانمارک) پیشنهادی توسط CLSI، برای باکتری انتروباکتر بررسی شد (۱۲). این داروها شامل کلیستین (CO، ۱۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (CLR، ۳۰ میکروگرم)، سولفامتوکسازول (SXT، ۲۳/۷۵+۱/۲۵ میکروگرم)، سفوکسیتین (CFO، ۳۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (CAZ، ۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (CTX، ۳۰ میکروگرم)، سفکسیم (CFM، ۵ میکروگرم)، سفتریاکسون (CTR، ۳۰ میکروگرم)، سفپیم (FEP، ۳۰ میکروگرم)، پیپراسیلین- تازوباکتام (PI+TZ، ۱۰۰+۱۰ میکروگرم)، آموکسی‌سیلین- کلاوولانیک اسید (AMC، ۲۰+۱۰ میکروگرم)، آزترونام (AZT، ۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (CIPR، ۵ میکروگرم)، جنتامایسین (GEN، ۱۰ میکروگرم)، آمیکاسین (AMI، ۳۰ میکروگرم)، ایمی‌پنم (IMP، ۱۰ میکروگرم)، و مروپنم (MRP، ۱۰ میکروگرم) بودند. در این روش با استفاده از نرمال سالین رقت ۰/۵ مک‌فارلند از باکتری تهیه گردید و کشت بر روی محیط مولرهینتون آگار انجام و پس از انکوباسیون محیط‌ها در دمای ۲±۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت، نتایج خوانده شدند. جهت ارزیابی صحت تست، از سویه *E.coli* ATCC 25922 به‌عنوان کنترل استفاده شد.

شناسایی فنوتیپی سویه‌های Multi-drug (MDR) Resistant، Extensively-drug (XDR) Resistant و Pan-drug Resistant (PDR)

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 بعنوان XDR و ایزوله‌هایی که به همه آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بودند به‌عنوان PDR در نظر گرفته شدند.

شناسایی سویه‌های تولید کننده آنزیم‌های ESBL به کمک روش فنوتیپی Double-Disc Synergy Test(DDST)

بر اساس پروتکل CLSI در سال ۲۰۱۴ برای شناسایی سویه‌های تولیدکننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف از روش DDST استفاده شد (۱۲). در مرحله اول رقت ۰/۵ مک فارلند از باکتری مورد نظر در ۵ میلی‌لیتر نرمال سالین تهیه گردید. سپس کشت شطرنجی از رقت تهیه شده بر روی محیط مولر هینتون آگار 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 هینتون آگار کشت داده شده، قرار داده شدند. پس از آن انکوباسیون در دمای ۱±۳۵ 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 صورتی‌که تفاوت قطر هاله عدم رشد باکتری اطراف هر دیسک به تنهایی در مقایسه با دیسک ترکیبی

خود ۵ میلی‌متر یا بیشتر می‌بود به‌عنوان سویه تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف (ESBL-positive) در نظر گرفته می‌شد.

شناسایی فنوتیپی ایزوله‌های تولیدکننده AmpC بتالاکتاماز

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

PCR Assay

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

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

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 استفاده از آگارز ۱ درصد روی دستگاه الکتروفورز حاوی بافر 0.5X TAE الکتروفورز شد و با استفاده از 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.

آنالیز آماری

از آزمون کای دو و نرم‌افزار SPSS (USA، Il،Chicago،SPSS Inc) ویرایش 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، مروپنم (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) نشان دادند. ۶۷/۴ درصد ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک سفکسیم (از سفالوسپورین‌های نسل سوم) مقاوم بودند. در بین آنتی‌بیوتیک‌های کلاس بتالاکتام (بجز کاربانم‌ها) ایزوله‌ها بهترین پاسخ را به پیپراسیلین-تازوباکتام (۶۵/۶ درصد) نشان دادند. میزان مقاومت به سفوکسیتین (سفامایسین) ۸۴/۴ درصد بود. سیپروفلوکساسین تنها کینولون مورد بررسی در این مطالعه بود که اثر نسبتاً خوبی بر علیه ایزوله‌ها داشت، به‌طوری 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- کلاوولانات نشان دادند (جدول ۱). نتایج بررسی نشان داد که ۱۱/۱ درصد ایزوله‌ها MDR هستند. تنها ۱ مورد XDR مشاهده شد و هیچ مورد PDR یافت نشد.

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 (سیپروفلوکساسین)، نسل سوم و چهارم سفالوسپورین‌ها مقاومت نشان دادند (جدول ۲).

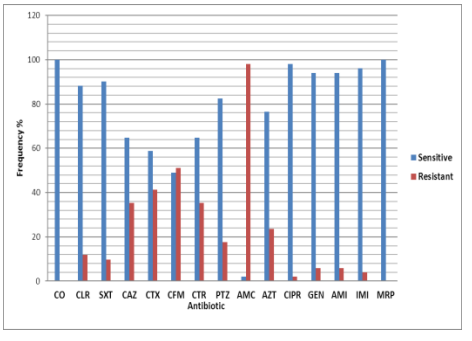
جدول ۱) پروفایل حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های انتروباکتر جداشده در طی ۱۰ سال از خون بیماران با استفاده از سیستم BACTEC 9240 (N=۹۰)

آنتی‌بیوتیک	حساسیت (٪)	مقاومت (٪)
کلیستین	۸۴ (۹۳/۳)	۶ (۶/۷)
کلرامفنیکل	۶۰ (۶۶/۷)	۳۰ (۳۳/۳)
سولفامتوکسازول	۶۳ (۷۰)	۲۷ (۳۰)
بتالاکتام‌ها		
سفوکسیتین	۱۴ (۱۵/۶)	۷۶ (۸۴/۴)
سفتازیدیم	۴۳ (۴۷/۸)	۴۷ (۵۲/۲)
سفوتاکسیم	۳۵ (۳۸/۹)	۵۵ (۶۱/۱)
سفکسیم	۲۸ (۳۱/۱)	۶۲ (۶۸/۹)
سفتریاکسون	۳۸ (۴۲/۲)	۵۲ (۵۷/۸)
سفپیم	۵۶ (۶۲/۲)	۳۴ (۳۷/۸)
پیپراسیلین- تازوباکتام	۵۹ (۶۵/۶)	۳۱ (۳۴/۴)
آموکسی‌سیلین- کلاوولانات	۵ (۵/۶)	۸۵ (۹۴/۴)
آزترونام	۴۶ (۵۱/۱)	۴۴ (۴۸/۹)
کینولون‌ها		
سیپروفلوکساسین	۷۶ (۸۴/۴)	۱۴ (۱۵/۶)
آمینوگلیکوزیدها		
جنتامایسین	۵۷ (۶۳/۳)	۳۳ (۳۶/۷)
آمیکاسین	۶۳ (۷۰)	۲۷ (۳۰)
کاربانم‌ها		
مروپنم	۸۹ (۹۸/۹)	۱ (۱/۱)
ایمی‌پنم	۸۶ (۹۵/۶)	۴ (۴/۴)

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

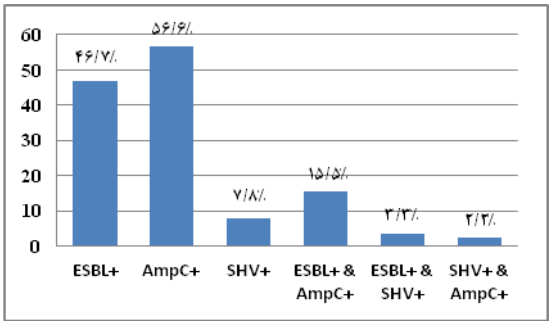
الگو	آنتی‌بیوتیک‌ها	تعداد ایزوله‌ها
A	سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفکسیم، سفتریاکسون	۴۶
B	سفپیم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفکسیم، سفتریاکسون	۲۹
C	سفپیم، سفوکسیتین	۲۵
D	سیپروفلوکساسین، سفپیم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفکسیم، سفتریاکسون	۱۱
E	سیپروفلوکساسین، سفپیم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفکسیم، سفتریاکسون، کلرامفنیکل	۹
F	کلرامفنیکل، سیپروفلوکساسین، کوتریموکسازول	۹
G	ایمی‌پنم، مروپنم، سفپیم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفکسیم، سفتریاکسون	۱
H	ایمی‌پنم، مروپنم، سیپروفلوکساسین	۱

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



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

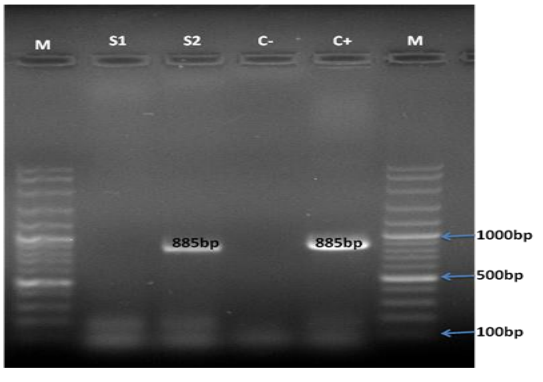
نتایج نشان داد که ۱۵/۵ درصد ایزوله‌ها همزمان ESBL مثبت و AmpC مثبت بودند (نمودار ۲). نتایج انجام PCR به منظور جستجوی ژن blaSHV در ایزوله‌های انتروباکتر نشان داد که ۷/۸ درصد سویه‌ها دارای این ژن هستند (نمودار ۳).



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

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

سال	ESBL(+)	SHV(+)	AmpC(+)
(N=۳۱) ۸۴-۸۸	(۵۰) ۲۱	(۱۴) ۱	(۳۱/۴) ۱۶
(N=۵۹) ۸۹-۹۳	(۵۰) ۲۱	(۸۶) ۶	(۶۸/۶) ۳۵
جمع کل	(۱۰۰) ۴۲	(۱۰۰) ۷	(۱۰۰) ۵۱



شکل ۱) شناسایی ژن bla_{SHV} در ایزوله‌های انتروباکتر. **M**: مارکر 100bp، **S1**: نمونه منفی و **S2**: نمونه مثبت. **C-**: کنترل منفی، **C+**: کنترل مثبت شماره ۱ (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 7881).

بحث

عفونت‌های گردش خون اکتسابی از بیمارستان از عوامل مهم بروز عوارض و ایجاد مرگ ومیر در سراسر جهان هستند. گونه‌های انتروباکتر که به عنوان اعضاء فلور نرمال مجرای معدی- روده‌ای هستند، پاتوژن‌های 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 کتترهای عروق مرکزی، استفاده طولانی مدت از آنتی‌بیوتیک‌ها، Ventriculostomy، استفاده از کتتر شانت Ventriculoperitoneal، تغذیه، و درمان‌های ایمونوساپرسیو هستند. بروز باکتریمی ناشی از انتروباکتر اکتسابی از بیمارستان در حال افزایش است و۱۰/۹ 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 ویرولانس و مقاوم می‌شود که در نتیجه آن خطر عفونت وجود دارد (۱۴).

در طی سال‌های ۱۹۹۸-۱۹۹۲ مقاومت انتروباکتر به سفالوسپورین‌های نسل سوم افزایش یافت و از ۲۲/۲ به ۵۹/۲ درصد رسید و ایزوله‌های انتروباکتر کلوآکه در طی این سال‌ها مقاومت بالایی به سفوروکسیم (۸۴/۳ درصد) و سفتریاکسون (۹۴/۲ درصد) نشان داده‌اند، در صورتی که در مطالعه ما ۵۷/۸ درصد سویه‌ها مقاوم به سفتریاکسون بودند. مشاهده انتروباکترهای مقاوم به نسل دوم و سوم سفالوسپورین‌ها می‌تواند مرتبط با استفاده پیشین از سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف باشد. در مطالعه ما میزان بسیار بالایی از مقاومت نسبت به نسل دوم و سوم سفالوسپورین‌ها مشاهده شد. در بین آنتی‌بیوتیک‌های کلاس کاربا‌پنم‌ها، ایزوله‌های انتروباکتر حساسیت بالاتری نسبت به مروپنم در مقابل ایمی‌پنم (۹۸/۹ درصد در مقابل ۹۵/۶ درصد) نشان دادند. در مطالعه‌ای در تایوان توسط چن (Chen) و همکاران، میزان حساسیت به سفپیم، توبرامایسین، تری‌متوپریم سولفامتوکسازول، سیپروفلوکساسین، مروپنم و ایمی‌پنم به ترتیب ۱۰۰، ۳۴/۸، ۳۲/۴، ۱۰۰، ۱۰۰، و ۹۶/۲ درصد گزارش شده است که در مقایسه با نتایج مطالعه حاضر، ایزوله‌های مطالعه ما حساسیت کمتری نشان دادند.

از نکات قابل توجه آنکه هم در مطالعه ما و هم در مطالعه چن و همکاران، ایزوله‌ها پاسخ بهتری به مروپنم در مقایسه با ایمی‌پنم نشان دادند. این موضوع می‌تواند بدان دلیل باشد که در اغلب بیمارستان‌ها از داروی ایمی‌پنم جهت درمان بیماران بستری استفاده می‌شود و با توجه به اینکه مکانیسم‌های کسب مقاومت به این دو دارو کمی با هم متفاوت است ایزوله‌هایی که تحت فشار و برخورد با ایمی‌پنم بوده‌اند، سریع‌تر مقاومت را بروز داده‌اند. در دهه گذشته بسیاری از مطالعات طغیان‌های ناشی از انتروباکتر را در بخش‌های نوزادان به ویژه به وسیله 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 کنترل مقاومت هستند. در مطالعه بر روی باکتری‌های گرم منفی ایزوله شده از ICUها ظهور مقاومت به سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف به عنوان یک مشکل اساسی در انتروباکتر و کلبسیلا مطرح شده است. در مطالعه‌ای بین سال‌های

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-تازوباکتام ۷۳ درصد، سفپیم ۸۴ درصدد سفتازیدیم ۶۳ درصد، ایمی‌پنم ۹۹ درصد و سیپروفلوکساسین ۹۰ درصد گزارش شده است (۱۴ و ۱۵). همانند نتایج تحقیق ما در بین داروهای گروه آمینوگلیکوزیدی 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 روزافزون 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 (سیپروفلوکساسین) از جمله داروهایی بودند که ایزوله‌ها پاسخ نسبتاً خوبی به آن نشان دادند که در مقایسه با مطالعات دیگر که حساسیت ۹۰ درصد برای سیپروفلوکساین 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 ۲۵-۱۵ درصد سویه‌های انتروباکتر کلوآکه تولیدکننده ESBL گزارش شده‌اند. پوتز و همکاران درصد حساسیت انتروباکتر کلوآکه را به سفوتاکسیم ۴۹/۳ درصد در سال ۲۰۰۱ تا ۷۱/۴ درصد گزارش نموده‌اند که با گذشت زمان میزان حساسیت سویه‌ها افزایش 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 سیپروفلوکساسین، ۳۳/۳ درصد مقاوم به کلرامفنیکل، ۳۰ درصد مقاوم به کوتریموکسازول بودند.

در بین سفالوسپورین‌های نسل سوم، سفتازیدیم (۴۷/۸ درصد حساسیت) مؤثرترین دارو بود. خوشبختانه کارباپنم‌ها 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 (نظیر اسینتوباکتر و پسودوموناس)

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

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

در تحقیق ما ۷/۸ درصد ایزوله‌ها دارای ژن SHV کدکننده آنزیم بتالاکتاماز بودند. در مطالعه تاون (Towne) و همکاران بر روی شناسایی بتالاکتاماز 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 بتالاکتاماز مربوطه می‌باشد و احتمالاً ژن‌های کدکننده آنزیم‌های دیگر نقش در بروز مقاومت به بتالاکتام‌ها 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 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 آمینوجنوس، 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 (۲۵-۲۱). انتروباکتر ساکازاکی از پاتوژن‌های بالقوه بیماری‌زا بوده و از مهم‌ترین بیماری‌های ناشی از آن سپسیس و مننژیت در نوزادان بستری در بخش NICU است و میزان مرگ ومیر در عفونت‌های ناشی از آن بین ۴۰ تا ۸۰ درصد متغیر است (۲۱).

نتیجه‌گیری

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 کاربانم‌ها برای درمان عفونت‌های انتروباکتر برای بیمارانی مدنظر قرار گیرند که دارای عفونت چند میکروبی یا دچار عفونت ناشی از

ایزوله‌های مقاوم به دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها هستند تا کارباپنم‌ها 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.

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

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.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.

2.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.

3.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.

4.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.

5.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.

6.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.

7.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.

8.Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: enterobacteriaceae. Am J Med 2006; 119(6 Suppl 1): S20-8.

9.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.

10.Schwaber MJ, Graham CS, Sands BE, et al. Treatment with a broad-spectrum cephalosporin versus piperacillin-tazobactam and the risk for isolation of broad-cephalosporin-resistant Enterobacter species. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47(6): 1882-6.

11.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; 3996): 812-8.

12.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 *bla*SHV gene Harboring *Enterobacter* spp. Isolated from Bloodstream Infections of Hospitalized Patients During 10 Years in South of Iran (Shiraz)

S. Nematolahi [1], A. Mosadegh [2*], J. Mardaneh [3], B. Poorabbas [4]

[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 *bla*SHV 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-20E 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 *bla*SHV 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, *bla*SHV 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.