

## بررسی شیوع عفونت‌های بیمارستانی ناشی از انتروباکترکلوآکه و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در نمونه‌های جدا شده از مراجعین به دو بیمارستان تهران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۱۱/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۲/۱۰

### چکیده

محمد رهبر<sup>۱</sup>، لیلا عظیمی<sup>۱</sup>

مونا محمدزاده<sup>۲</sup>، فرانک عالی‌نژاد<sup>۳</sup>

سمیه سلیمان‌زاده مقدم<sup>۱</sup>

محبوبه ستارزاده<sup>۳</sup>

عبدالعزیز رستگار لاری<sup>۴\*</sup>

۱- مرکز تحقیقات مقاومت‌های میکروبی،

دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۲- گروه میکروبی‌شناسی، آزمایشگاه مرجع

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی و

آزمایشگاه بیمارستان میلاد، تهران، ایران.

۳- آزمایشگاه میکروبی‌شناسی بیمارستان شهید

مطهری، تهران، ایران.

۴- گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده پزشکی،

دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

\* نویسنده مسئول: تهران، خیابان ستارخان، خیابان

نیایش، بیمارستان حضرت رسول، ساختمان شماره ۱،

طبقه ۴، مرکز تحقیقات مقاومت‌های میکروبی

تلفن: ۰۲۱-۸۲۹۴۳۱۸۳

E-mail: lari@tums.ac.ir

### مقدمه

انتروباکترکلوآکه (*Enterobacter cloacae*) یک پاتوژن مهم از خانواده انتروباکتریاسه می‌باشد که عامل طیف وسیعی از عفونت‌های بیمارستانی نظیر عفونت‌های تنفسی و ادراری، پوستی و بافت نرم، باکتری، اندوکاردیت، آرتريت سپتیک، استئومیلیت و نیز عفونت‌های چشمی می‌باشد.<sup>۱،۲</sup> به‌علاوه این میکروارگانیسم عامل

گروه گسترده‌ای از عفونت‌های اکتسابی از جامعه از جمله عفونت‌های ادراری، پوستی و عفونت زخم‌ها محسوب می‌شود.<sup>۳،۴</sup> شیوع عفونت‌های مخاطره‌آمیز ناشی از این پاتوژن، در اکثر نقاط جهان در حال پیشرفت می‌باشد. از طرفی با توجه به گسترش مقاومت در بین گونه‌ها و دشوار شدن راه‌حل‌های درمانی برای بیماران مبتلا به عفونت‌های ناشی از میکروارگانیسم‌ها، به‌خصوص در بخش مراقبت‌های ویژه باعث نگرانی‌های عمده‌ای در بین جوامع پزشکی

افتراقی نظیر TSI، لایزین دکربوکسیلاز، سیترات، SIM و غیره نمونه‌های *انتروباکترکلوآکه* جداسازی شدند. کلنی‌های مربوط به سویه‌های *انتروباکترکلوآکه* در محیط Tryptic Soy Broth (TSB) (Merck Co., Germany) حاوی ۰.۲٪ گلیسرول در دمای ۷۰ °C- ذخیره شدند تا در مرحله بعدی در دستور کار تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی قرار بگیرند. باکترهای تایید شده در دستور کار آنتی‌بیوگرام بر اساس روش استاندارد Clinical and Laboratory Standards (CLSI) قرار گرفتند.

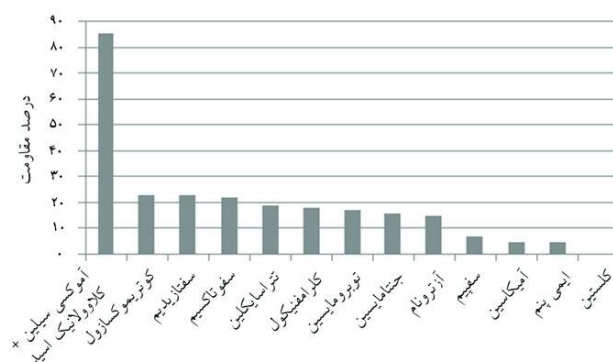
به‌طور خلاصه: ابتدا از نمونه‌های خالص شده کشت شبانه بر روی محیط ائوزین متیلن‌بلو انجام گرفته، سپس از یک کلنی به محیط مولر هیتون برات تلقیح شد تا کشت دو ساعته با غلظت ۰/۵ مک‌فارلند آماده شود. از رقت ۱/۱۰۰ این سوسپانسیون باکتریایی جهت انجام تست آنتی‌بیوگرام استفاده شد. پس از ۱۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ °C نتایج آنتی‌بیوگرام خوانده شد. تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از دیسک‌های زیر صورت گرفت: سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفپیم (۳۰ میکروگرم)، آزترونام (۳۰ میکروگرم)، ایمپنم (۱۰ میکروگرم)، آموکسی‌سیلین- کلاولانیک اسید (۲۰-۱۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، توبرومایسین (۱۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، کلرامفنیکول (۳۰ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۲۳/۷۵-۱/۲۵ میکروگرم) و کلستین (۱۰ میکروگرم) تمامی دیسک‌ها تولیدی شرکت MAST انگلستان بودند.

شناسایی فنوتیپی سویه‌های تولیدکننده ESBL: با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی سفنازیدیم- کلاونیک اسید و سفوتاکسیم- کلاونیک اسید، به‌کمک روش دیسک ترکیبی بررسی فنوتیپی تولید ESBL توسط سویه‌های جدا شده نیز صورت پذیرفت. در این روش دیسک‌های سفوتاکسیم و سفوتاکسیم کلاولانیک اسید و یا سفنازیدیم. سفنازیدیم کلاولانیک اسید به فاصله سه سانتی‌متر (مرکز به مرکز) روی پلیت مولر هیتون آگار، حاوی باکتری کشت شده قرار گرفتند. ایزوله‌هایی که دارای اختلاف قطر هاله عدم رشد حداقل پنج میلی‌متر در اطراف دیسک‌های سفوتاکسیم و سفوتاکسیم کلاولانیک اسید و یا سفنازیدیم. سفنازیدیم کلاولانیک اسید بودند به‌عنوان باکتری‌های تولیدکننده ESBL در نظر گرفته شدند.

شده است.<sup>۵۶</sup> به‌نظر می‌رسد که بستری بودن بیماران بیش از دو هفته و مواجه بودن آن‌ها با گروه‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی به‌ویژه سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف، هم‌چنین انجام پروسه‌های تهاجمی برای بیماران مانند استفاده از کاتترهای عروق مرکزی، ریسک فاکتور-های اصلی و مهم در ایجاد عفونت‌های ناشی از *انتروباکترکلوآکه* می‌باشند.<sup>۴۶</sup> مطالعات انجام‌شده نشان‌دهنده روند تزایدی مقاومت *انتروباکتریا*سه‌ها به خانواده بتالاکتام‌ها می‌باشد. پس از دهه ۸۰ با ظهور سفالوسپورین‌های نسل سوم مقاومت در برابر سفالوسپورین‌ها ظاهر گردید. مکانیسم این مقاومت‌ها توسط آنزیم‌های بتالاکتاماز مترشحه صورت گرفته است. ظهور *انتروباکتر*های مقاوم به بتالاکتام‌ها توسط مکانیسم‌های ژنتیکی مختلف صورت می‌گیرد به‌خصوص در سال‌های اخیر ثابت شده است که این گونه‌های باکتریایی توانایی کسب پلاسمید دارای ژن‌های کدکننده بتالاکتامازها به‌خصوص بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف را دارا می‌باشد.<sup>۱۶،۷</sup> ژن‌های عامل ایجادکننده مقاومت باکتری‌ها به‌راحتی قابل انتقال در بین انواع گونه‌های *انتروباکتریا*سه‌ها می‌باشند و عامل گسترش شیوع مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در سر تا سر جهان تلقی می‌شوند.<sup>۸</sup> از این رو عفونت‌های بیمارستانی ناشی از این گونه‌های باکتریال که توانایی تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف را دارا هستند، می‌تواند باعث ایجاد معضلات و مشکلات عدیده‌ای در درمان بیماران بستری، شده‌اند. این امر ما را بر آن داشت تا شیوع *انتروباکترکلوآکه*‌های تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف را در بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های میلاد و مطهری تهران بررسی نماییم.

## روش بررسی

در این مطالعه توصیفی در فاصله زمانی هشت ماهه از بهمن ۱۳۸۹ تا شهریور ۱۳۹۰، ۱۰۱ *انتروباکترکلوآکه* شامل ۸۰ *انتروباکترکلوآکه* از نمونه‌های مختلف بیماران بستری در بیمارستان میلاد و ۲۱ *انتروباکترکلوآکه* از زخم سوختگی بیماران بستری در بیمارستان مطهری تهران جداسازی گردید. تمامی نمونه‌های انتقالی از بیمارستان‌ها (تحت شرایط استاندارد) ابتدا بر روی محیط بلاد آگار و ائوزین متیلن‌بلو (Merck Co., Germany) کشت داده شده و سویه‌ها به‌صورت کاملاً خالص تهیه شدند. سپس با استفاده از تست‌های



نمودار ۱: درصد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های متفاوت تست شده

## یافته‌ها

از میان ۱۰۱ بیمار مورد بررسی ۳۷٪ زن و ۶۳٪ مرد و با رنج سنی بین صفر تا ۶۵ سال بودند. باکتری‌ها از نمونه‌های مختلف نظیر خون، CSF، زخم سوختگی، عفونت ادراری و غیره ایزوله شدند. نتایج تست‌های حساسیت آنتی‌بیوتیکی در نمودار ۱ نشان داده شده است. نتایج گزارش شده با خطای استاندارد میانگین برابر با ۰/۳۴ می‌باشد (std ± ۰/۳۴). بر اساس مشاهدات فنوتیپی ۳۳٪ از سویه‌ها جهت تولید آنزیم ESBL بر اساس تست دیسک ترکیبی مثبت گزارش شدند.

## بحث

آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف که قادر هستند بتالاکتام‌هایی چون سفتریاکسون، سفنازیدیم، سفوتاکسیم و آزترونام را هیدرولیز کنند، برای اولین بار در اروپا در اوایل دهه ۸۰ شناسایی شدند و به سرعت در تمام نقاط جهان گسترش یافتند.<sup>۳</sup> انتروباکترکلوآکه یکی از مهم‌ترین گونه‌های انتروباکتریاسه در ایجاد عفونت‌های مختلف بیمارستانی محسوب می‌شود.

عفونت‌های ناشی از این میکروارگانیسم‌ها بالاخص در بیماران بستری در بخش مراقبت ویژه به دلیل مصرف بالای آنتی‌بیوتیک‌ها و ظهور میکروارگانیسم‌های چند مقاومتی باعث شکست درمانی و افزایش مرگ و میر ناشی از این امر می‌گردد.<sup>۵،۶</sup> مطالعات انجام شده مقاومت انتروباکترکلوآکه‌ها را نسبت به سفالوسپورین‌های نسل سوم

نشان داده است. چنانچه مطالعه انجام شده در برخی کشورهای اروپایی مقاومت ۲۲ درصدی را نسبت به سفنازیدیم نشان می‌دهد که این آمار تقریباً مشابه با نتایج گزارش شده در این مطالعه می‌باشد (۲۳٪ مقاومت به سفنازیدیم).<sup>۳</sup> هم‌چنین بررسی‌های مختلفی در زمینه مکانیسم ایجاد مقاومت به سفالوسپورین‌ها در انتروباکترکلوآکه در کشورهای مختلف از جمله مصر، لبنان و عربستان سعودی صورت گرفته است. نتایج این مطالعات تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف را به‌عنوان یکی از مهم‌ترین و در واقع اصلی‌ترین مکانیسم ایجاد مقاومت معرفی کرده است.<sup>۵</sup> در سال‌های اخیر گزارشات متعددی از شیوع در حال گسترش گونه‌های انتروباکتریاسه تولیدکننده ESBL از نقاط مختلف جهان منتشر گشته که این خود نشان‌دهنده افزایش نیاز به توجه ویژه در مورد عفونت‌های ناشی از این میکروارگانیسم‌ها در دنیا می‌باشد.<sup>۱،۲،۷،۸</sup> به‌عنوان مثال فراوانی گونه‌های انتروباکترکلوآکه تولید ESBL در سنگاپور از ۲۹٪ در سال ۱۹۹۸ به ۴۸٪ در سال ۲۰۰۱ و یا در آفریقای جنوبی از ۱۴٪ در سال ۱۹۹۸ به ۵۶٪ در سال ۲۰۰۱ رسید.<sup>۱</sup> در ایران نیز فراوانی اشرشیاکلی‌های تولیدکننده ESBL جدا شده از عفونت ادراری در سال ۲۰۰۸ برابر با ۲۸٪ بوده<sup>۴</sup> در صورتی که این آمار در سال ۲۰۱۱ به ۴۴٪ رسیده است.<sup>۷</sup> امروزه تولید ESBL در تمام گونه‌های خانواده انتروباکتریاسه به اثبات رسیده است.<sup>۹</sup> هم‌چنین در مطالعات مختلف ثابت شده است که ژن‌های تولیدکننده ESBL قادر هستند به راحتی در بین تمام اعضای انتروباکتریاسه انتقال یابند. در مطالعه‌ای که بر روی نمونه‌های مختلف در برخی بیمارستان‌های کشورهای اروپا انجام شد مقاومت انتروباکترکلوآکه‌های ایزوله شده از نمونه‌های مختلف ارسالی نسبت به آموکسی سیلین - کلاروتراولام، سفنازیدیم، سفپیم تقریباً مشابه با نتایج مطالعه حاضر بود ولی مقاومت به ایچی پنم در سوش‌های مورد بررسی در این مطالعه پنج برابر است در صورتی که مقاومت نسبت به آزترونام در مطالعه حاضر کم‌تر از نتایج به‌دست آمده در کشورهای اروپایی بوده است.<sup>۳</sup> این خود می‌تواند نشان‌دهنده مصرف وسیع کارباپنم‌ها (مانند: ایچی پنم و یا مروپنم) به‌خصوص پس از تولید توسط تولیدکننده‌های داخلی در کشور ما می‌باشد. هم‌چنین در مطالعه دیگر در آسیا و آفریقای جنوبی در سال ۲۰۰۳ فراوانی گونه‌های انتروباکترکلوآکه تولیدکننده ESBL حدوداً مشابه با مطالعه حاضر بود ولی مقاومت سوش‌ها به سفپیم دو برابر مقاومت

میکروارگانیزم را تشخیص و شناسایی صحیح و سریع گونه‌های تولیدکننده ESBL اعلام کرده‌اند.<sup>۴</sup> نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند در جهت تعیین استراتژی و پروتکل درمانی مناسب در درمان عفونت‌های ناشی از *انتروباکترکلوآکه* تولیدکننده ESBL مد نظر قرار بگیرند.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی تحت عنوان "بررسی عفونت‌های بیمارستانی ناشی از *انتروباکترکلوآکه* و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در نمونه‌های جدا شده از مراجعه‌کنندگان به بیمارستان میلاد و شهید مطهری تهران" مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران در سال ۱۳۹۰ با کد ۹۰-۰۱-۱۳-۱۳۴۰۷ که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران اجرا شده است.

مشاهده‌شده در این مطالعه گزارش شد<sup>۱</sup> که این امر می‌تواند نشان‌دهنده وجود مکانیسم‌های دیگری در مقاومت به سفالوسپورین‌ها را باشد. گونه‌های تولیدکننده ESBL در این مطالعه تقریباً دو برابر مطالعه‌ای است که در سال ۲۰۰۸ در فرانسه انجام شد.<sup>۱۰</sup> ظهور فراوانی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها هم‌چنین در برخی موارد فراوانی بیش‌تر *انتروباکترکلوآکه*‌های تولیدکننده آنزیم ESBL در مطالعه حاضر می‌تواند مربوط به استفاده بی‌رویه این آنتی‌بیوتیک‌ها در کشور ما در مقایسه با دیگر کشورها باشد که منجر به ظهور مقاومت رو به رشد در *انتروباکترکلوآکه*‌های ایزوله‌شده از بیماران شده است. امروزه با توجه به اهمیت فراوان گسترش سریع مقاومت در بین گونه‌های مختلف خانواده *انتروباکتریاسه*، از جمله *انتروباکترکلوآکه*، پزشکان اولین گام صحیح در درمان عفونت ناشی از این

## References

- Bell JM, Turnidge JD, Jones RN; SENTRY Asia-Pacific Participants. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacter cloacae in the Asia-Pacific region: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1998 to 2001. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(12):3989-93.
- Matsushima A, Takakura S, Fujihara N, Saito T, Ito I, Inuma Y, et al. High prevalence of mutators among Enterobacter cloacae nosocomial isolates and their association with antimicrobial resistance and repetitive detection. *Clin Microbiol Infect* 2010;16(9):1488-93.
- Nijssen S, Florijn A, Bonten MJ, Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit AC. Beta-lactam susceptibilities and prevalence of ESBL-producing isolates among more than 5000 European Enterobacteriaceae isolates. *Int J Antimicrob Agents* 2004;24(6):585-91.
- Fraser LS, Cunha BA. Enterobacter Infections. Medscape. [Online] 2010 Jan 7 [cited 2012 Apr 11]; Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/216845-overview>
- Khalaf NG, Eleteby MM, Hanson ND. Characterization of CTX-M ESBLs in Enterobacter cloacae, Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae clinical isolates from Cairo, Egypt. *BMC Infect Dis* 2009;9:84.
- Hoffmann H, Stürenburg E, Heesemann J, Roggenkamp A. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases in isolates of the Enterobacter cloacae complex from German hospitals. *Clin Microbiol Infect* 2006;12(4):322-30.
- Soltan Dallal MM, Molla Aghamirzaei H, Fallah Mehrabadi J, Rastegar Lari A, Eshraghiyan MR, Fard Sanei A, et al. Molecular detection of TEM and AmpC (Dha, mox) broad spectrum  $\beta$ -lactamase in clinical isolates of Escherichia coli. *Tehran Univ Med J (TUMJ)* 2010;68(6):872-7.
- Pakzad I, Ghafourian S, Taherikalani M, Sadeghifard N, Abtahi H, Rahbar M, Mansory Jamshidi N. qnr Prevalence in Extended Spectrum Beta-lactamases (ESBLs) and None-ESBLs Producing Escherichia coli Isolated from Urinary Tract Infections in Central of Iran. *Iran J Basic Med Sci* 2011;14(5):458-64.
- Manzur A, Tubau F, Pujol M, Calatayud L, Dominguez MA, Peña C, 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.
- Ibadene H, Messai Y, Ammari H, Ramdani-Bouguessa N, Lounes S, Bakour R, et al. Dissemination of ESBL and Qnr determinants in Enterobacter cloacae in Algeria. *J Antimicrob Chemother* 2008;62(1):133-6.

## The prevalence of nosocomial infections caused by *Enterobacter cloacae* and antibiotic resistant patterns in samples isolated from patients in two hospitals in Tehran

Received: January 25, 2012 Accepted: February 29, 2012

### Abstract

Mohammad Rahbar Ph.D.<sup>1,2</sup>  
Leila Azimi M.Sc.<sup>1</sup>  
Mona Mohammad-Zadeh  
M.Sc.<sup>2</sup>  
Faranak Alinejad M.D.<sup>3</sup>  
Somayeh Soleymanzadeh B.Sc.<sup>1</sup>  
Mahboobeh Sattarzadeh M.Sc.<sup>3</sup>  
Abdolaziz Rastegar Lari  
Ph.D.<sup>1,4\*</sup>

1- Antimicrobial Resistance  
Research Center, Tehran University  
of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- Department of Microbiology,  
Iranian Reference Health  
Laboratory, Ministry of Health and  
Medical Education, Tehran, Iran.

3- Microbiology Laboratory,  
Motahhari Hospital, Tehran  
University of Medical Sciences,  
Tehran, Iran.

4- Department of Microbiology,  
School of Medicine, Tehran  
University of Medical Sciences,  
Tehran, Iran.

**Background:** The increasing use of  $\beta$ -lactam antibiotics in clinics for the treatment of different bacterial infections since early 1980s has led to increased rates of resistant bacteria isolated from patients. One of the problems in the treatment of nosocomial infections is related to resistant bacteria such as *Enterobacter cloacae* due to cross resistance through extended-spectrum beta-lactamase production. The aim of this study was to determine the prevalence of extended-spectrum beta-lactamase producing *E. cloacae* from different clinical specimens collected from hospitalized patients.

**Methods:** In the present study, 101 *E. cloacae* confirmed by standard specific microbiologic tests were collected from different specimens in Milad and Motahri hospitals in Tehran, Iran during February 2010 and September 2011. Antibiotic susceptibility tests were conducted according to the process recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute for 13 antibiotics of choice. Extended-spectrum beta-lactamase producing strains were screened for by combined disk method as a phenotypic diagnostic test.

**Results:** From a total of 101 *E. cloacae*, 33 (33%) were shown to produce extended-spectrum beta-lactamase by phenotypic tests; 5% of the bacteria were resistant to imipenem too.

**Conclusion:** This study clearly showed the high prevalence of resistance to broad-spectrum beta-lactam antibiotics in the isolated *E. cloacae* among which 5% were multi drug resistant. All the isolated *E. cloacae* were susceptible to Colistin. These results can be alarming for physicians treating resistant *E. cloacae* infections, especially extended-spectrum beta-lactamase producing species.

**Keywords:** Antibiotic resistance, *Enterobacter cloacae*, extended-spectrum beta-lactamase.

\* Corresponding author: Antimicrobial  
Resistance Research Center, 4<sup>th</sup> Floor,  
No. 1 Building, Rasul Hospital, Niyayesh  
Ave., Satarkhan St., Tehran, Iran.  
Tel: +98-21-82943183  
E-mail: lari@tums.ac.ir