View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Qazvin University of Medical Sciences Repository

بررسی همزمانی حضور بتالاکتامازهای وسیع الطیف و فاکتور های پلاسمیدی مقاومت به کینولون در ایزوله های انتروباکتر جمع آوری شده از بیمارستان های شهرهای قزوین، کرج و تهران

امیر پیمانی[۱]، تقی ناصر پور فریور[۱]، مهدی محمدی قنبرلو[۲]، رضا نجفی پور[۱]، سمانه منصوری[۲]، رسول صمیمی[۳*]

۱. مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۲. گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۳. گروه بیماری های داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

***عهده دار مکاتبات:** گروه بیماری های داخلی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، ایران.

Email:
samimi.rasoul@gmail.com

چکیده

مقدمه: انتروباکتر کلوآکه از اعضای خانواده انتروباکتریاسه بوده که به سبب بروز فاکتور های مقاومت دارویی با منشا پلاسمیدی از جمله بتالاکتاماز های وسیع الطیف Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs) و مقاومت کینولونی وابسته به پلاسمید (qnr) باعث نگرانی متخصصین در کنترل عفونت و درمان بیماران شده است. این مطالعه به همزمانی حضور فاکتور های پلاسمیدی مقاومت به کینولون در ایزوله های مولد ESBLs در ایزوله های بالینی انتروباکتر کلوآکه می پردازد.

مواد و روش ها: در مجموع ۱۱۰ ایزوله انتروباکتر کلوآکه از بیمارستان های آموزشی شهرهای قزوین، کرج و تهران جمع آوری شد. حضور ESBLs در این ایزوله ها با استفاده از آزمون فنوتیپی دیسک ترکیبی تایید شدند. سپس فراوانی ژن های پلاسمیدی qnr به روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: در این مطالعه در مجموع، ۴۸ ایزوله مولد ESBLs بودند که از بین آن ها ۱۴ ایزوله ها (۲۹/۲٪) ژن *qnrS1*، ۱۴ ایزوله (۲۹/۲٪) ژن *qnr B4* و ۲۶ ایزوله (۵۴/۲٪) ژن *qnr B1* را داشتند.

بحث و نتیجه گیری: مطالعه حاضر حاکی از فراوانی قابل توجه همزمانی حضور بتالاکتاماز های وسیع الطیف و ژن های مقاومت پلاسمیدی نسبت به کینولون ها در ایزوله های انتروباکتر کلوآکه جدا شده از نمونه های بالینی در بیمارستان های مورد مطالعه است. با توجه به ماهیت پلاسمیدی بتالاکتامازهای وسیع الطیف و فاکتور های کد کننده qnr، به کارگیری ابزار های مناسب کنترل عفونت و راه کار های مناسب درمانی در جلوگیری از انتشار هر چه بیشتر این ارگانیسم های مقاوم در بخش های مختلف بیمارستانی ضروری است.

کلید واژه ها : انتروباکتر کلوآکه، بتالاکتامازهای وسیع الطیف، qnr

مقدمه :

انتروباکتر کلوآکه باسیلی گرم منفی بوده و یکی از عوامل شایع ایجاد کننده عفونت بیمارستانی در بیماران بستری می باشد. این ارگانیسم به عنوان یک مشکل سلامت عمومی در سرتاسر جهان مطرح است[۱]. گزارشات مختلفی از سراسر جهان مبنی بر نقش این ارگانیسم در ایجاد عفونت های جدی از جمله عفونت های دستگاه ادراری، دستگاه تنفس، پوست،

بافت نرم و خون در بخش های مختلف بیمارستانی وجود دارد [۲]. همچنین حضور انتروباکتر کلوآکه در بیماران بستری به خصوص در بخش مراقبت ویژه و سایر بخش های بحرانی با افزایش مرگ و میر همراه می باشدکه از جمله فاکتورهای خطرزای عفونت با این ارگانیسم می توان به نقص سیستم ایمنی در بیماران، بستری طولانی مدت در بیمارستان و استفاده از ابزار تهاجمی و جراحی اشاره نمود [۳-۴].

دارو های بتالاکتام فراوان ترین و پر مصرف ترین عوامل ضد میکروبی تجویزی علیه این میکروارگانیسم ها هستند. استفاده بی رویه و نامناسب از این آنتی بیوتیک ها باعث افزایش ظهور مقاومت های دارویی چند گانه در میان ایزوله های انتروباکتر کلوآکه شده است [۵]. در سال های اخیر با پیدایش گونه های مقاوم این ارگانیسم، نگرانی های زیادی در نتیجه محدود شدن انتخاب آنتی بیوتیک های مناسب جهت درمان عفونت های مقاوم ایجاد شده است. تاکنون انواع مختلفی از آنزیم های بتالاکتاماز در گونه های انتروباکتر شناسایی شده اند[۶].

بتالاکتاماز های وسیع الطیف Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs) ESBLs از مکانیسم های مهم پیدایش مقاومت نسبت به داروهای بتالاکتام می باشد. آنزیم های ESBLs منشاء پلاسمیدی دارند که توانایی هیدرولیز طیف وسیعی از داروهای بتالاکتام از جمله پنی سیلین ها و سفالوسپورین های نسل یک، دو و سه را دارند. این آنزیم ها توسط مهار کننده های بتالاکتاماز از جمله کلاولانیک اسید، سولباکتام و تازوباکتام مهار می شوند [۷-۸].

همچنین استفاده زیاد و نامناسب از سایر دارو ها از جمله کینولون ها، پیدایش مقاومت های چندگانه ایزوله های انتروباکتر کلوآکه را افزایش داده است[۹]. کینولون ها بطور رایج برای درمان بیماران بستری مبتلا به ایزوله های انتروباکتر استفاده می شوند. با توجه به این که مقاومت به کینولون ها اغلب در نتیجه موتاسیون های نقطه ای کروموزومی می باشد ولی با این حال مقاومت کینولونی وابسته به پلاسمید در بخش هایی از جهان گزارش شده است. پلاسمید های حمل کننده ژن های qnr از نظر اندازه متفاوت هستند اما تقریبا همه آن ها چندین شاخص مقاومت را حمل می کنند [۱۰].

ژن های *qnr* پروتئین های پنتاپپتیدی را کد می کند که قادرند کینولون ها را از DNA gyrase و توپوایزومراز IV محافظت کنند. اولین ژن مقاومت کینولونی وابسته به پلاسمید در سال ۱۹۹۴ از کلبسیلا پنومونیه جدا شده از یک بیمار بستری در بیمارستانی از Birmingham کشف شد. که به ترتیب از سایر ایزوله های بالینی مانند سیتروباکتر فروندی، گونه های انتروباکتر، اشریشیاکلی ، پرووویدانشیا استوارتی و گونه های سالمونلا در ایالات متحده و اروپا و کشورهای شرقی دور و نزدیک گزارش شدند [۱۱].

این مطالعه ضمن تعیین شیوع ESBLs در ایزوله های انتروباکتر کلوآکه جمع آوری شده از بیمارستانهای شهر قزوین، کرج و تهران، به بررسی حضور همزمان ژن های *qnr* در این ایزوله های مقاوم می پردازد.

مواد و روش ها:

تعداد ۱۱۰ ایزوله انتروباکتر کلوآکه از نمونه های بالینی مختلف نظیر شامل ادرار، زخم، خلط، برونکو آلوئولار لاواژ، تراشه، خون و مایع مغزی نخاعی بیماران بستری بیمارستانهای شهرهای قزوین، کرج و تهران جمع آوری شدند.

ابتدا تعیین هویت گونه های انتروباکتر براساس روشهای استاندارد بیوشیمیایی و میکروب شناسی از جمله آزمون های اکسیداز، کشت بر روی محیط TSI (Triple Sugar Iron Agar)، آزمون اندول، تحرک، آزمون های متیل رد (MR) و ووگس پروسکوئر(VP) و سیترات صورت گرفت [۱۲]. سپس باکتری های جداسازی شده بعد از تعیین هویت در محیط تریپتی کیز سوی براث حاوی ۲۰٪ گلیسرول در ۸۰- درجه سانتی گراد تا زمان انجام آزمونهای بعدی ذخیره شدند.

تمامی ایزوله ها از نظر تولید ESBLs با استفاده از آزمون دیسک ترکیبی مورد بررسی قرار گرفتند. از دیسکهای سفتازیدیم (۳۰µg) و سفتازیدیم (۳۰µg) / کلاولانیک اسید (۱۰µg)، سفوتاکسیم (۳۰µg) و سفوتاکسیم (۳۰µg) / کلاوولانیک اسید (۱۰µg) استفاده شد. مطابق دستورالعمل CLSI، افزایش قطر هاله عدم رشد دیسک ترکیبی به میزان ۵ میلی متر یا بیشتر نسبت به قطر هاله عدم رشد دیسک به تنهایی، از نظر حضور ESBLs مثبت در نظر گرفته می شود [۱۳]. در آزمون تائیدی از *E.coli* ATCC 25922 به عنوان کنترل منفی و از *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

تمامی ایزوله ها از نظر حضور ژن های *qnr A*، *qnr B* و *qnr S* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی به روش PCR و تعیین توالی بررسی شدند [۱۴] (جدول۱). ابتدا استخراج DNA ایزوله ها با استفاده از روش جوشاندن (boiling) انجام شد. بدین صورت که ۴ تا ۵ کلنی از کشت ۲۴ ساعته باکتری را در ۳۰۰ µl از بافر TE (10mM Tris, 1mM EDTA, pH 8.0) حل کرده، محلول را ۵ دقیقه در ۹۵ درجه قرار داده سپس آن را روی یخ گذاشتیم در ادامه پس از سانتریفوژ در دور۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه از محلول رویی بعنوان DNA الگو استفاده شد. تکثیر ژن های *qnr* با استفاده از دستگاه ترمال سیکلر و تحت شرایط زیر انجام شد.

دمای دناتوراسیون اولیه(۹۵ درجه برای ۵دقیقه)، سپس ۳۵ سیکل حرارتی شامل: ۱ دقیقه با دمای دناتوراسیون ۹۵ درجه، ۱ دقیقه دمای اختصاصی اتصال پرایمر و۵۳ درجه برای qnrB4، qnrS و qnrA و دمای ۴۹ درجه برای qnrB1، دمای تکثیر(۱دقیقه ۷۲ درجه) و در دمای تکثیر نهایی (۷۲ درجه ۱۰ دقیقه) انجام گرفت. محصولات PCR با الکتروفورز روی ژل آگارز ۱٪ و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم برماید و مشاهده با سیستم gel documentation، بررسی شدند.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت جداسازی ژنهای کد کننده qnr

ژن	پرایمر	توالی
qnrA1-6	qnrFmaF	**ACG CCAGGATTTGAGTGAC**
	qnrFmaR	**CCAGGCACAGATCTTGAC**
qnrB1-3,5,6,8	qnrBF	**GGC ACT GAA TTT ATC GGC**
	qnrBR	**TCC GAA TTG GTC AGA TCG**
qnrS1–2	qnrSF	**CCTACAATCATACATATCGGC**
	qnrSR	**GCTTCGAGAATCAGTTCTTGC**
qnrB4	qnrB4F	**AGTTGTGATCTCTCCATGGC**
	qnrB4R	**CGGATATCTAAATCGCCCAG**

سپس ارتباط مابین حضور ESBLs و ژنهای پلاسمیدی کد کننده qnr با استفاده از آزمون مجذور کای دو و با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ مورد بررسی قرار گرفت. مقدار P value کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها:

در طول دوره مطالعه ۱۱۰ ایزوله از انتروباکتر کلوآکه از نمونه های مختلف شامل ادرار (۳۸ ایزوله، ۳۴/۵٪)، زخم (۲۸ ایزوله، ۲۵/۵٪)، تراشه (۱۷ ایزوله ۱۵/۵٪)، خون (۱۷ایزوله ۱۵/۵٪)خلط (۶ ایزوله ۵/۵٪)، برونکو آلوئولار لاواژ (۲ ایزوله ۱/۸٪)، و مایع مغزی نخاعی (۲ ایزوله ۱/۸٪) بدست آمد. ایزوله ها از بیماران بستری شده در بخش های مراقبت ویژه (۴۷/۳،۵۲٪)، داخلی (۲۵، ۲۲/۷٪)، عفونی(۱۲، ۱۰/۹٪)، نورولوژی (۵، ۴/۵٪)، جراحی (۷، ۶/۴٪) و ارتوپدی (۹- ۸/۲٪) گرفته شد. میانگین سنی بیماران ۱۹/۱۸ ± ۴۸/۴۳ سال بود.

در بین ایزوله های مولد ESBLs، بیشترین مقاومت دارویی مربوط به نالیدیکسیک اسید (۴۶- ۹۵/۸٪) و سیپروفلوکساسین (۲۷-۵۶/۲٪) بود در حالی که در بین ایزوله های غیر مولد ESBLs بیشترین مقاومت نسبت به نالیدیکسیک اسید (۴۹- ۷۹٪) گزارش شد(جدول۲).

جدول ۲: بررسی الگوی مقاومت ایزوله های انتروباکتر کلا مولد و غیر مولد ESBLs در برابر کینولون های مورد مطالعه

ایزوله های	نالیدیکسیک اسید		سیپروفلوکساسین		گتی فلوکساسین		نورفلوکساسین	
	حساس	مقاوم	حساس	مقاوم	حساس	مقاوم	حساس	مقاوم
مولدESBLs (n =٤٨)	۲(٤/۲٪)	۴۶(۹۵/۸٪)	۲۱(۴۳/۸٪)	۲۷(۵۶/۲٪)	۳۸(۷۹/۲٪)	۱۰(۲۰/۸٪)	۳۲(۶۶/۷٪)	۱۶(۳۳/۳٪)
ایزوله های غیرمولد ESBLs(n =٦٢)	۱۳(۲۱٪)	۴۹(۷۹٪)	۵۴(۸۷/۱٪)	۸(۱۲/۹٪)	۵۸(۹۳/۵٪)	۴(۶/۵٪)	۵۸(۹۳/۵٪)	۴(۶/۵٪)
مجموع	(۱۳/٦٪)۱۵	(۸۶/۴٪)۹۵	(۶۸/۲٪)۷۵	(۳۱/۸٪)۳۵	(۸۷/۳٪)۹۶	(۱۲/۷٪)۱۴	(۸۱/۸٪)۹۰	(۱۸/۲٪)۲۰

در مجموع از ۱۱۰ ایزوله انتروباکتر کلوآکه، ۴۸ ایزوله مولد ESBLs بودند که از بین ایزوله های مولد ESBLs، ۱۴ ایزوله ژن *qnr S1* (۲۹/۲٪)، ۱۴ ایزوله ژن *qnr B4* (۲۹/۲٪) و ۲۶ ایزوله ژن *qnr B1* (۵۴/۲٪) جدا شد. همچنین از بین ۶۲ ایزوله غیر مولد ESBLs، از ۲۶ ایزوله (۱۲/۹٪)، ژن *qnr S1* (۶/۵٪) و ژن *qnr B4* (۱۷/۷٪) جدا شد. در این مطالعه qnrA در بین این ایزوله ها جداسازی نشد. در این مطالعه با بررسی آماری مشخص شد که ارتباط معنا داری ما بین حضور همزمان ESBLs و حضور ژن های qnr S، *qnr B4* و *qnr B1* در این ایزوله ها وجود دارد(جدول۳).

جدول ۳. فراوانی ژن های کد کننده qnr در ایزوله های مولد و غیر مولد ESBLs

ژن ها	ایزوله های غیر مولد ESBLs	ایزوله های مولد ESBLs	P value
qnr S	۸(۱۲/۹٪)	۱۴(۲۹/۲٪)	۰/۰۳۱
qnr B4	۴(۶/۵٪)	۱۴(۲۹/۲٪)	۰/۰۰۲
qnr B1	۱۱(۱۷/۷٪)	۲۶(۵۴/۲٪)	۰/۰۰

بحث:

امروزه انتروباکتر کلوآکه بعنوان مشکل جدی در ایجاد عفونت های بیمارستانی مطرح شده است. در سالهای اخیر ایزوله های با مقاومت دارویی چندگانه در بیمارستان هایی که از سفالوسپورین ها به طور وسیع استفاده می کنند ظاهر شده اند [۱۵]. استفاده طولانی مدت و نامناسب از دارو های وسیع الطیف ازجمله سفالوسپورین ها و فلوروکینولون ها باعث پیدایش ایزوله های با الگو های مقاومت دارویی چند گانه شده است [۱۶]. گزارش های فراوانی از حضور این ایزوله های مقاوم در عفونت های مهم بالینی در سراسر جهان وجود دارد. فاکتور های پلاسمیدی کد کننده مقاومت از جمله ESBLs و qnr با توجه به اهمیت بالینی آن ها در ایجاد مقاومت در سال های اخیر مورد توجه زیادی بوده است. این فاکتور های مقاومت نگرانی های زیادی را برای پزشکان و متخصصین کنترل عفونت در بیماران به همراه داشته است که در سال های اخیر حضور همزمان ESBLs و qnr در ایزوله های بالینی این نگرانی ها را افزایش داده است [۱۷].

در این مطالعه، ۱۱۰ ایزوله از انتروباکتر کلوآکه از نظر حضور همزمان ژن های بتالاکتامازهای وسیع الطیف و ژن های پلاسمیدی مقاوم به کینولون مورد بررسی قرار گرفتند. در مجموع ۴۸ ایزوله مولد ESBLs بودند که در مقایسه با مطالعه ای که توسط میر صالحیان و همکارانش در سال ۲۰۰۸ در تهران انجام شد و میزان تولید ESBLs را در ایزوله های انتروباکتر ۵۰٪ گزارش کردند، تقریبا" همخوانی دارد [۱۸].

البته بررسی های انجام شده نشان دادند که در ایران مطالعات انجام شده برروی گونه های انتروباکتر بسیار محدود بوده است و مطالعات انجام شده در بیشتر نقاط جهان بر روی ژن های ESBLs و یا ژن های پلاسمیدی مقاوم به کینولون ها به طور جدا گانه می باشد. مطالعاتی که در کشورهای کره، تایوان و برزیل بر روی ایزوله های بالینی گونه های انتروباکتر انجام شد نشان می دهد که به ترتیب ۴۳٪، ۱۳/۴٪ و ۲۱٪ از نظر تولید ESBLs مثبت گزارش کردند که در مقایسه با مطالعه حاضر از فراوانی کمتری برخوردار بودند [۱۹]. در این مطالعه مشخص شد که در بین ایزوله های تولید کننده ESBLs، بیشترین مقاومت به نالیدیکسیک اسید و سیپروفلوکساسین و همچنین بیشترین حساسیت نسبت به گتی فلوکساسین بود. با بررسی حضور ژن های *qnr* در ایزوله های مقاوم مشخص گردید که (۵۴/۲٪) همزمان حاوی ژن *qnr B1*، (۲۹/۲٪) همزمان دارای ژن های *qnr S* و *qnr B4* بودند. با انجام آزمون آماری مشخص شد که ارتباط معنی داری ما بین حضور ESBLs و qnr در ایزوله های انتروباکتر وجود دارد که به نظر می رسد همزمان توسط یک پلاسمید انتقال می یابد که این امر نیاز به توجه زیادی است چرا که توانایی مقاومت همزمان به بتالاکتاماز های وسیع الطیف و کینولون ها را ممکن می سازد. همزمانی حضور این فاکتور ها در سایر باکتریهای خانواده آنتروباکتریاسه مطالعات نیز گزارش شده است به طوری که Pasom و همکارانش طی مطالعه ای در سال ۲۰۱۳ گزارش کردند که ژن های پلاسمیدی مقاوم به کینولون ها شیوع بسیار بالایی در بین ایزوله های تولیدکننده ESBLs نسبت به ایزوله های غیر مولد ESBLs داشتند به طوری که ۴۲/۶٪ از ایزوله های اشرشیا کلی مولد ESBLs دارای این ژنها پلاسمیدی بودند در حالی که فقط در مقابل ۹/۵٪ ایزوله های غیر مولد آن بودند و همچنین ۸۱/۶٪ ایزوله های کلبسیلا پنومونیه مولد ESBLs واجد این ژن ها در مقابل ۳۴/۶٪ ایزوله های غیر مولد ESBLs ژن های پلاسمیدی مقاوم، کینولون را دارا بودند [۲۰].

Viana و همکارانش طی مطالعه ای در برزیل در سال ۲۰۱۰ همزمانی حضور مقاومت پلاسمیدی کینولون و بتالاکتاماز های وسیع الطیف (ESBLs) را بررسی نمودند که مشخص شد ۱۰ ایزوله qnr همزمان از نظر حضور ژن بتالاکتاماز وسیع

الطیف CTX-M مثبت بود [۲۱] . در مطالعه دیگری Cruz و همکارانش در سال ۲۰۱۳ در آرژانتین گزارش کردند که ۶۶٪ از باکتریهای خانواده آنتروباکتریاسه تولید کننده ESBLs حداقل حاوی یک ژن پلاسمیدی مقاوم به کینولون بودند.[۲۲]. همچنین Piekarska و همکارانش در لهستان با مطالعه بر روی ایزوله های اشرشیا کلی نشان دادند که ۱۸ ایزوله (۸/۳٪) حامل ژن های *qnr* هستند که همگی مقاوم به نالدیکسیک اسید بودند. همچنین گزارش کردند که ۸۸/۹٪ ایزوله های qnr مثبت، همزمان تولید کننده بتالاکتاماز های وسیع الطیف (CTX-M و TEM) بودند [۲۳].

نتیجه گیری:

نتایج این مطاله نشان داد که ژن های پلاسمیدی کد کننده مقاومت به مجموعه دارو های کینولونی در ایزوله های مقاوم مولد ESBLs از شیوع بالایی برخور دارند. با توجه به ماهیت پلاسمیدی هر دو فاکتور مهم مقاومت دارویی در این باکتری ها، توجه بیشتر متخصصین بالینی و کنترل عفونت ضروری می باشد. با بکار گیری ابزار های مناسب کنترل عفونت و تجویز منطقی آنتی بیوتیک ها و ارائه راه کار های درمانی مناسب می توان از انتشار بیشتر این ایزوله ها و مکانیسم های مقاومت شان در بخش های مختلف بیمارستان های مورد مطالعه و بویژه بخش های بحرانی آن جلوگیری کرد.

* تشکر و قدردانی:

از شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین و مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی بابت حمایت مالی از این پروژه قدردانی می شود.

References:

1. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Mprse SA, Mietzner TA. Medical Microbiology. United States.25th Editon ,The McGraw-Hill Companies, 2010 ;Chapter15,219.

2. Lee CC, Lee NY, Yan JJ, Lee HC, Chen PL, Chang CM, Wu CJ, Ko NY, Wang LR, Chi CH, Ko WC. Bacteremia due to extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacter cloacae: role of carbapenem therapy. Antimicrob Agents Chemother 2010;54(9):3551-6.

3. Musil I, Jensen V, Schilling J, Ashdown B, Kent T. Enterobacter cloacae infection of an expanded poly tetra fluoroethylene femoral-popliteal bypass graft: a case report. J Med Case Rep 2010; 4:131.

4. Chen CH, Huang CC. Risk factor analysis for extended-spectrum β-lactamase-producing *Enterobacter cloacae* bloodstream infections in central Taiwan. BMC Infect Dis 2013;13:417.

5. Lee CC, Lee NY, Yan JJ, Lee HC, Chen PL, Chang CM, Wu CJ, Ko NY, Wang LR, Chi CH, Ko WC. Bacteremia due to extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacter cloacae*:* role of carbapenem therapy. Antimicrob Agents Chemother 2010;54(9):3551-6.

6. Spanu T, Luzzaro F, Perilli M, Amicosante G, Toniolo A, Fadda G; Italian ESBL Study Group. Occurrence of extended-spectrum beta-lactamases in members of the family Enterobacteriaceae in Italy: implications for resistance to beta-lactams and other antimicrobial drugs. Antimicrob Agents Chemother 2002;46 (1):196-202.

7. Pitout JD, Moland ES, Sanders CC, Thomson KS, Fitzsimmons SR. Beta-lactamases and detection of beta-lactam resistance in *Enterobacter spp*. Antimicrob Agents Chemother. 1997;41(1):35-9.

8. Ferna´ndez A, Jose´ Pereira M, Manuel Sua´rez J, Poza M, Trevin˜o M

,Villalo´n P, Antonio Sa´ez-Nieto J, et al. Emergence in Spain of a multidrug-resistant *Enterobacter cloacae* clinical isolate producing SFO-1 extended-spectrum beta-lactamase.J Clin Microbiol 2011 ;49(3):822-8.

9. Iabadene 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.

10. Muller S, Oesterlein A, Frosch M, Abele-Horn M, Valenza G. Characterization of Extended-Spectrum Beta-Lactamases and qnr Plasmid-Mediated Quinolone Resistance in German Isolates of *Enterobacter* spp. Microb Drug Resist 2011;17(1):99-103.

11. Jacoby GA1, Walsh KE, Mills DM, Walker VJ, Oh H, Robicsek A, Hooper DC. qnrB, another plasmid-mediated gene for quinolone resistance. Antimicrob Agents Chemother. 2006 Apr;50(4):1178-82.

12. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 15th informational supplement. Wayne, Pennsylvania: Clinical Laboratory Standards Institute Document M100-S15; 2005.

13. Boyd K, Cheadle RF , Duberg DM, Dud R, Heuertz RM, Mister PC, et al. Textbook Of Diagnostic Microbiology. Fourth Edition, Saunders Company 2011; Chapter19,51-459.

14. Lavilla S, González-López JJ, Sabaté M, García-Fernández A, Larrosa MN,

Bartolomé RM, Carattoli A, Prats G. Prevalence of qnr genes among extended-spectrum b-lactamase-producing enterobacterial isolates in Barcelona, Spain. J Antimic Chemother 2008;61 (2):291–295.

15. Keller R, Pedroso MZ, Ritchmann R, Silva RM. Occurrence of virulence-associated properties in Enterobacter cloacae. Infect Immun 1998;66(2):645-9.

16. Wu JJ1, Ko WC, Tsai SH, Yan JJ. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants QnrA, QnrB, and QnrS among clinical isolates of *Enterobacter cloacae* in a Taiwanese

hospital. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51(4):1223-7. Epub 2007 Jan 22.

17. Jemima SA, Verghese S. Molecular characterization of nosocomial CTX-M type beta-lactamase producing Enterobacteriaceae from a tertiary care hospital in south India. Indian J Med Microbiol2008;26(4) : 365-8.

18. Mirsalehian A, Akbari-Nakhjavani F, Peymani A, Kazemi B, Jabal Ameli F,Mirafshar SM. Prevalence of Extended Spectrum β-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae by Phenotypic and Genotypic Methods in Intensive CareUnits in Tehran, Iran. Daru2008;16(3);169-173.

19. Kim J, Lim Y. Prevalence of Derepressed AmpC Mutants and Extended-Spectrum Beta-Lactamase Producers among Clinical Isolates of Citrobacter freundii, Enterobacter spp and Serratia marcescens in Korea: Dissemination of CTX-M-3, TEM-52, and SHV-12. J Clin Microbiol2005;43(5):2452-5.

20. Pasom W, Chanawong A, Lulitanond A, Wilailuckana C, Kenprom S,

Puang-Ngern P. Plasmid-mediated qu

inolone resistance genes, aac(6')-Ib-cr, qnrS, qnrB, and qnrA, in urinary isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* at a teaching hospital, Thailand. Jpn J Infect Dis 2013;66(5):428-32.

21. Viana AL, Cayô R, Avelino CC, Gales AC, Franco MC, Minarini LA. Extended-spectrum β-lactamases in Enterobacteriaceae isolated in Brazil carry distinct types of plasmid-mediated quinolone resistance genes. J Med Microbiol. 2013 Sep;62(Pt 9):1326-31.

22. Cruz GR, Radice M, Sennati S, Pallecchi L, Rossolini GM, Gutkind G, Conza JA. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants among oxyiminocephalosporin-resistant Enterobacteriaceae in Argentina. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2013;108(7):924-7.

23. Piekarska K, Rzeczkowska M, Zacharczuk K, Chróst A, Januszkiewicz A, Bareja E, Olak M, Gierczyński R. Prevalence of qnr genes in clinical Enterobacteriaceae non-susceptible to fluoroquinolone in Poland. Med Dosw Mikrobiol 2012;64 (3):211-9.

Co-existence of ESBL and plasmid mediated-quinolone resistance among *Enterobacter cloacae* collected from Qazvin, Karaj and Tehran hospitals

Amir Peymani[1], Taghi Naserpour Farivar[1], Mahdi Mohammadi Ghanbarlou[2], Reza Najafipour[1], Samaneh Mansouri[2] and Rasoul Samimi[3]

1. Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran
2. Department of Medical Microbiology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.
3. Department of Internal Medicine, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

**Corresponding Author:*
Department of Internal Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

E- mail:
samimi.rasoul@gmail.com

Abstract

Introduction: Plasmid mediated-quinolone resistance (qnr) and Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs)-producing *Enterobacter cloacae* is now becoming clinical concern for infectious diseases physicians. The aim of this study was to evaluate the co-existence of ESBL and qnr determinants among clinical isolates of E. cloacae.

Material and Methods: In total, 110 E. cloacae isolates were collected from educational hospitals of Qazvin, Karaj and Tehran. ESBL production was confirmed by combined disk method. Qnr-encoding genes were then detected using PCR method.

Results: In this study, 48 isolates were ESBL producers among those 14 cases (29.2%), 14 cases (29.2%) and 26 cases (54.2%) isolates carried qnrS1, qnrB4 and qnrB1, respectively.

Conclusion: This study showed a considerable increase of co-existence of qnr and ESBLs among E. cloacae isolates collected from studied hospitals. Since qnr and ESBL production are usually plasmid mediated, thus there is need for efficient infection control practices and appropriate antimicrobial therapy to prevent the further spread of these resistant organisms in our hospitals.

Keywords: Enterobacter cloacae, Extended-Spectrum Beta-Lactamases, qnr