

سپتی سمی حاصل از باکتری های هوازی و حساسیت آنها به آنتی بیوتیک ها در نوزادان

دکتر آذر دخت خسروی* مرضیه نجف آبادی فراهانی**

Neonatal septicemia caused by aerobic bacteria in newborn infants

AD.Khosravi M.Najafabadi Farahani

*Abstract

Background: Bacterial sepsis in neonates is a clinical syndrome characterized by systemic signs of infection and accompanied by bacteremia in the first month of life. The mortality rate is high and sometimes has reported up to 50%.

Objective: Isolation of aerobic bacteria which are responsible for neonatal sepsis and determination of their antibiotic sensitivity patterns.

Methods: The study was cross-sectional and undertaken in Imam Khomainsi Hospital, Ahwaz during year 2000. Blood culture, identification of isolated species and susceptibility testing were done according to the standard techniques used in microbiology laboratories.

Findings: The results showed that ten cases had positive blood culture which all of the isolated bacteria were gram negative bacilli. Enterobacter species were the predominant pathogens (50%). Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli had similar frequencies (20%). One case was recognized as Alcaligenes xylooxidans (10%). All of the isolated bacteria were nearly susceptible to amikacin and resistant to ampicillin.

Conclusion: Based on the overall results of the study, enteric gram negative bacteria were the common cause of neonatal sepsis.

Keywords : Septicemia, Neonates, Aerobic Bacteria, Antibiotic Sensitivity

* چکیده

زمینه : سپسیس باکتریایی نوزادان یک نشانگان بالینی است که طی ماه اول زندگی توسط علائم سیستمیک عفونت مشخص و با باکتری می همراه می شود. گاهی نسبت مرگ و میر تا ۵۰٪ نیز گزارش شده است.

هدف : مطالعه به منظور تعیین عوامل باکتریایی هوازی ایجاد کننده سپسیس نوزادی و همچنین تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی آنها انجام شد.

مواد و روش ها : این مطالعه توصیفی- مقطعی در ۹ ماه اول سال ۱۳۷۹ بر روی نوزادان بستری در بخش نوزادان بیمارستان امام خمینی اهواز انجام شد. کشت خون و تعیین هویت کشت های مثبت و آزمون حساسیت به آنتی بیوتیک ها بر اساس استاندارد رایج در آزمایشگاه های میکروب شناسی بود.

یافته ها : از بین نوزادان مورد مطالعه، ۱۰ نوزاد دارای کشت خون مثبت و کلیه باکتری های جدا شده نیز باسیل های گرم منفی بودند. در میان عوامل جدا شده، گونه های اینتروباکتر به عنوان مهم ترین و غالب ترین پاتوژن ها شناخته شد (۵۰٪) و پس از آن کلبسیلا پنومونیه و اشرشیاکلی فراوانی یکسانی داشتند (۲۰٪) و یک مورد آکالیپژنز زابلواکسیدانس نیز جدا شد (۱۰٪). تقریباً تمام موارد جدا شده نسبت به آمیکاسین حساس و نسبت به آمپی سیلین مقاوم بودند.

نتیجه گیری : بر اساس نتایج کلی مطالعه مهم ترین عوامل ایجاد کننده سپسیس نوزادی باکتری های گرم منفی بوده ای بودند.

کلید واژه ها : سپتی سمی، نوزادان، باکتری های هوازی، حساسیت آنتی بیوتیکی

* استادیار گروه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

** کارشناس ارشد میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی اهواز

آدرس مکاتبه : اهواز، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، دانشکده پزشکی، گروه میکروبیشناسی E.mail : khosraviaz@yahoo.com

* مقدمه :

عفونت ها یکی از علل شایع و مهم بیماری و مرگ و میر در دوره نوزادی هستند. ۲ درصد جنین ها در رحم و ۱۰ درصد نوزادان در هنگام زایمان یا طی ماه اول زندگی به عفونت مبتلا می شوند.^(۱) یکی از مهم ترین عفونت های دوران نوزادی سپتی سمی یا سپسیس است که سندرمی بالینی و ناشی از اثرات پاتوفیزیولوژیک عفونت موضعی یا عمومی (سیستمیک) در اولین ماه زندگی است. سپتی سمی بر حسب زمان بروز علائم بالینی به دو شکل زودرس و دیررس تقسیم می شود. نوع زودرس در هفته اول زندگی (معمولاً کمتر از ۳ روز) مشاهده می شود. نسبت مرگ و میر آن بالا و اغلب بین ۱۵ تا ۵۰ درصد متغیر است. شایع ترین عوامل مسؤوول این نوع سپتی سمی، استرپتوکوک های گروه B و اشرشیاکلی (E.coli) و راه عمده انتقال این عوامل از طریق کانال زایمانی است.^(۲و۳) سپتی سمی دیررس پس از هفته اول زندگی تا ۲۸ الی ۳۰ روزگی تشخیص داده می شود و نسبت مرگ و میر آن از نوع زودرس کمتر و در حدود ۱۰ الی ۲۰ درصد است. عوامل ایجاد کننده آن نیز به طور معمول پس از تولد در اثر استفاده از مواد و تجهیزات آلوده، از محیط بیمارستان یا در اثر برخورد و تماس با افراد کسب می شوند.^(۴و۳)

مهم ترین عوامل ایجاد کننده سپسیس نوزادی باکتری ها هستند و قطعی ترین راه تشخیص این عفونت ها جداسازی میکروارگانیزم عامل از خون نوزاد از طریق انجام کشت خون است.^(۴) دستگاه گردش خون که در شرایط عادی و طبیعی یک محیط استریل محسوب می شود در صورت دخول باکتری به آن آلوده شده و باکتری به وجود می آید که به طور معمول در سپسیس نوزادی این باکتری از نوع دائمی است.^(۱) در بیماران مبتلا به

باکتری می دایم امکان جداسازی میکروارگانیزم ها با هر بار نمونه گیری وجود دارد، زیرا در این نوع باکتری می میکروارگانیزم به طور ثابت و پیوسته از کانون عفونی به درون جریان خون آزاد می شود و چون در چنین شرایطی سیستم ایمنی میزبان توانایی محدود کردن و از بین بردن میکروارگانیزم ها را ندارد. لذا سپتی سمی پایدار ایجاد می گردد.^(۲)

عوامل متعددی در ایجاد سپسیس نوزادی مداخله می کنند مانند وزن کم نوزاد در هنگام تولد یا نارس بودن، نگه داری نوزادان پس از تولد در بخش نوزادان، وضعیت سیستم ایمنی نوزاد، وضعیت تغذیه ای و نیز جنس نوزاد (سپسیس در نوزادان مذکر بیش تر دیده می شود). برخی عوامل مرتبط با مادر نیز زمینه ساز سپسیس نوزادی هستند مانند زایمان زودرس، تب حین یا پس از زایمان، پارگی طولانی مدت غشاء ها و چندقلو زایی.^(۳)

عوامل ایجاد کننده سپتی سمی نوزادان در مکان های جغرافیایی مختلف و بیمارستان های مختلف متغیر هستند به عنوان مثال در سرتاسر ایالات آمریکا و اروپای غربی، استرپتوکوک های گروه B به عنوان یکی از پاتوژن های اصلی باکتریایی در سپتی سمی نوزادان مطرح هستند و در کشورهای نظیر فنلاند و آفریقای شرقی، استافیلوکوکوس ارئوس (*Staphylococcus aureus*) به عنوان عامل اصلی گزارش شده است.^(۴) میزان بازیافت قارچ ها و ویروس ها از موارد سپسیس نوزادی در مقایسه با باکتری ها بسیار کمتر بوده است.^(۵)

مطالعه حاضر، تحقیقی است کوتاه مدت و اولیه که برای نخستین بار به بررسی عوامل باکتریایی هوازی مداخله گر در سپتی سمی نوزادی در یکی از بیمارستان های اهواز و نحوه پاسخ گویی این عوامل به آنتی بیوتیک ها می پردازد.

*** مواد و روش ها :**

در این مطالعه توصیفی- مقطعی در مجموع ۲۰۰ نوزاد بیمار بستری در بخش نوزادان بیمارستان امام خمینی اهواز مورد مطالعه قرار گرفتند. نمونه گیری از ابتدای سال ۱۳۷۹ به مدت ۹ ماه انجام شد. نمونه خون نوزادان در بخش گرفته شده و وارد شیشه‌های حاوی محیط کشت خون (شرکت پادتن طب) شد.

محیط های کشت حاوی نمونه پس از انتقال به آزمایشگاه به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و پس از طی این مدت بر روی محیط های آگار خون دار، آگار شکلاته و مک کانکی آگار تلقیح و برای ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. کشت های فاقد رشد برای ۲۴ ساعت دیگر در ۳۷ درجه قرار داده شدند و کشت های مثبت از نظر مرفولوژی کلنی های باکتری و تولید احتمالی همولیز روی آگار خون دار مورد بررسی قرار گرفتند جهت انجام رنگ آمیزی گرم از کلنی ها گسترش تهیه شد. در صورت مشاهده کلنی، آزمون های بیوشیمیایی استاندارد جهت تشخیص جنس و گونه باکتری ها انجام و در صورت لزوم برای تشخیص قطعی از آزمون های قندی نیز استفاده می شد. کشت های خون منفی تا ۳ هفته در ۳۷ درجه سانتی گراد نگه داری و در صورت عدم رویت رشد، دور انداخته شدند.^(۶)

جهت تشخیص جنس و گونه باکتری های جدا شده، آزمون های بیوشیمیایی انجام شد. جهت تفکیک دقیق گونه های اینترو باکتر و همچنین آلکالیژنز زایلواکسیدانس از آزمون های قندی سوربیتول، گزیلوز، مالتوز، گلوکز، فروکتوز و سوکروز نیز استفاده شد. اینتروباکتر آئروژنز (*Enterobacter aerogenes*) و اینتروباکتر کلوآکسه (*Enterobacter cloacae*) قادر به تخمیر سوربیتول بودند و نیز آلکالیژنز قند گزیلور را اکسید نمود. آزمون حساسیت به آنتی بیوتیک ها به روش کربی بائر

(KirbyBauer) انجام گرفت.^(۶) در این روش با حل کلنی باکتری مورد نظر در آبگوشت TSB (Tripticase soy broth) و قرار دادن آن در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد اجازه داده می شد که باکتری ها به میزان مورد نظر تکثیر یابند. پس از ۲ تا ۳ ساعت رشد و مقایسه رقت آن با محلول استاندارد مک فارلند (Mcfarland)، سوسپانسیون میکروبی برای آزمون حساسیت مناسب می شد. از سوسپانسیون میکروبی بر روی محیط کشت مولر هیتون به روش سفره ای کشت داده شد و سپس دیسک های آنتی بیوتیک با فواصل معینی در پلیت قرار داده شد. پلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت و پس از خاتمه زمان انکوباسیون، قطر هاله های عدم رشد در اطراف دیسک ها اندازه گیری و یادداشت شد و با مراجعه به جدول استاندارد آزمون حساسیت و مقایسه آن با مقادیر استاندارد، نتیجه آزمون به صورت حساس، نیمه حساس یا مقاوم گزارش شد.^(۶) داده ها با آزمون آماری کای دو تجزیه و تحلیل شد.

*** یافته ها :**

از ۲۰۰ نوزاد مورد مطالعه، ۱۲۳ نفر (۶۱/۵ درصد) مذکر و ۷۷ نفر (۳۸/۵ درصد) مؤنث بودند که از بین آنها ۴ درصد از نوزادان مذکر (۸ مورد) و ۱ درصد از نوزادان مؤنث (۲ مورد) کشت مثبت داشتند. میانگین سن نوزادان در هر دو جنس ۱۵ روز بود.

از این تعداد ۶۰ مورد با تشخیص بالینی اولیه سپسیس، ۶۲ مورد با تشخیص اولیه نارس بودن و بقیه آنان با تشخیص های اولیه متفاوتی نظیر بیماری مادرزادی قلبی، پنومونی، گاستروانتریت و غیره بستری شده بودند. میزان کشت های مثبت به دست آمده از این بیماران در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- فراوانی نوزادان بر اساس تشخیص بالینی اولیه و کشت های مثبت

تشخیص بالینی اولیه	تعداد	درصد	تعداد موارد کشت مثبت	درصد کشت مثبت
سپسیس	۶۰	۳۰	۴	۲
نارس بودن	۶۲	۳۱	۵	۲/۵
سایر موارد	۷۸	۳۹	۱	۰/۵
کل	۲۰۰	۱۰۰	۱۰	۵

۱۰ مورد از کل نمونه های مورد آزمایش، کشت مثبت داشتند که از این تعداد، گونه های مختلف اینتروباکتر نیمی از موارد را تشکیل می دادند و پس از آنها کلبسیلاپنومونیه (*Klebsilla pneumoniae*) و اشرشیاکلی فراوانی یکسان داشتند. در ضمن یک مورد آلکالیژنز زایلواکسیدانس (*Alkaligenes xylooxidans*) نیز جدا شد (نمودار شماره ۱).

نمودار ۱- درصد فراوانی باکتری های جدا شده از کشت های مثبت

در رابطه با حساسیت آنتی بیوتیکی اینتروباکترهای جدا شده، اینتروباکتر کلوآ که نسبت به جنتامایسین دارای حساسیت متوسط بود (نمودار شماره ۲).

نمودار ۲- حساسیت آنتی بیوتیک اینتروباکترهای جدا شده

نتایج حساسیت آنتی بیوتیکی کلبسیلاپنومونیه و اشرشیاکلی جدا شده نیز نشان داد که یک مورد کلبسیلاپنومونیه جدا شده نسبت به کربنی سیلین و کانامایسین دارای حساسیت متوسط و یک مورد از اشرشیاکلی جدا شده نسبت به آمیکاسین و جنتامایسین و مورد دیگر نسبت به کربنی سیلین و کلرامفنیکل حساسیت متوسط داشتند.

آلکالیژنز زایلواکسیدانس نسبت به آمیکاسین، کربنی سیلین، کانامایسین و کوتریماکسازول حساس و نسبت به آمپی سیلین، جنتامایسین، کانامایسین و سفالوتین مقاوم بود.

* بحث و نتیجه گیری :

نتایج حاصل از تحقیق حاضر که طی آن باکتری های گرم منفی به عنوان مهم ترین عوامل ایجاد کننده سپسیس در نوزادان شناسایی شدند با نتایج دیگر بررسی های انجام شده در اکثر کشورهای توسعه یافته که دلالت بر اهمیت استرپتوکوک های گروه B به عنوان شایع ترین عامل ایجاد کننده سپسیس دارند، متفاوت است. بر اساس تحقیقات دیگری که در سایر نقاط کشور انجام شده به نظر می رسد که استرپتوکوک های گروه B در کشور ما شایع نیستند. بررسی های مشابه در اصفهان و شیراز، تهران و تبریز حاکی از جداسازی باکتری های گرم منفی به عنوان عوامل شایع سپسیس نوزادی است. (۱۱و۱۰)

عوامل عمده ایجاد کننده سپتی سمی باکتریایی نوزادی در مناطق جغرافیایی مختلف، متفاوت هستند و همان گونه که ذکر شد، تقریباً کلیه کتب معتبر و همچنین اکثر تحقیقات انجام شده در ایالات متحده آمریکا و اروپا استرپتوکوک های گروه B را به عنوان شایع ترین عامل سپسیس نوزادی معرفی کرده اند. (۱۱و۱۰و۴و۱)

۳ گزارش شده است.^(۵۹) در این تحقیق نیز نسبت نوزادان مذکر دارای کشت مثبت به نوزادان مؤنث ۴ به ۱ بود.

عدم تطابق تشخیص بالینی سپسیس و تشخیص آزمایشگاهی (کثرت موارد منفی کشت) می تواند به این دلیل باشد که جهت افزایش بازیافت میکروارگانیزم ها، گرفتن ۳ نمونه خون از بیمار پیشنهاد شده است، ولی به دلیل حجم کم خون نوزادان به طور معمول یک نمونه خون گرفته می شود و این مسأله ممکن است جداسازی باکتری را کاهش دهد.^(۱۲۶)

تجویز آنتی بیوتیک برای نوزادان نیز ممکن است نتایج کشت را تحت تأثیر قرار دهد. در تحقیق حاضر ۵۱ نفر از نوزادان در هنگام اخذ خون جهت کشت از آنتی بیوتیک های جنتامایسین، آمپی سیلین و آمیکاسین استفاده کرده بودند که از این تعداد ۳ نوزاد کشت مثبت داشتند و آزمون سنجش حساسیت به آنتی بیوتیک ها در هر سه مورد، مقاومت میکروارگانیزم های جدا شده را نسبت به این آنتی بیوتیک ها نشان داد.

با توجه به این که احتمال می رود اکثر نوزادان مورد مطالعه، میکروارگانیزم ها را از جامعه یا از محیط بیمارستان کسب کرده باشند، لذا در این میان بسیاری از میکروارگانیزم ها از قبیل ویروس ها و قارچ ها و نیز باکتری های بی هوازی که در ایجاد سپسیس دیررس نقش دارند اهمیت پیدا می کنند.^(۱۳) زیرا این دسته از عوامل نیز علائم بالینی مشابه با سپسیس باکتریایی دارند که در تحقیق حاضر مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین احتمال دارد که این عوامل نیز در ایجاد سپسیس در جامعه مورد بحث نقش داشته باشند.

بدیهی است که نتایج حاصل از این تحقیق فقط در محدوده جامعه مورد مطالعه و در محدوده زمانی

تحقیق های انجام شده در آمریکا نشان داده اند که بیماری استرپتوکوکی گروه B در بین نوزادان به وضعیت کلونیزاسیون سرویکس زنان با این باکتری بستگی دارد، به طوری که در یک بررسی در جامعه مکزیک ساکن آمریکا مشخص شد این میزان کلونیزاسیون در زنان مکزیکه مورد مطالعه بسیار کم تر از زنان سفید پوست و سیاه پوست آمریکایی همین جامعه بوده است.^(۱) دلایل این تفاوت در میزان کلونیزاسیون به درستی مشخص نیست ولی ممکن است خصوصیات ژنتیکی، بهداشت، تغذیه و وضعیت اقتصادی- اجتماعی مؤثر باشند.

اگر در جامعه مورد مطالعه حاضر، نوزادان به دو گروه تقسیم شوند یعنی گروه اول نوزادان با تشخیص اولیه سپسیس و گروه دوم با تشخیص اولیه غیر سپسیس، مشاهده می شود که در گروه اول متوسط سن نوزادان ۱۱ روز است که این مسأله نشان گر آن است که احتمالاً سپسیس در اکثر این نوزادان از نوع دیررس است. لذا این احتمال که نوزادان عامل سپسیس را از منبع غیر مادری دریافت کرده باشند تقویت می شود، زیرا همان طوری که پیش از این نیز اشاره شد استرپتوکوک های گروه B از اعضای فلور طبیعی واژن هستند و به طور معمول از راه انتقال عمودی به نوزادان منتقل می شوند. به نظر می رسد گروه دوم نیز پس از بستری شدن، میکروارگانیزم عامل سپسیس را از محیط بیمارستان یا از اجتماع کسب نموده اند که این موارد می تواند عدم جداسازی استرپتوکوک گروه B از نوزادان این مطالعه را توجیه کند.

در ارتباط با جنس نیز بیش تر تحقیقات نشان داده اند که نوزادان مذکر بیش تر از نوزادان مؤنث به سپسیس مبتلا می شوند و نسبت ابتلای به سپسیس در مذکر ها نسبت به مؤنث ها حدود ۷ به

بیمارستان امین اصفهان از سال ۱۳۶۲ تا ۱۳۶۹. مجله دانشکده پزشکی اصفهان، بهار ۱۳۷۱، ۳۴، ۶۳-۵۴

۸. دهدشتیان مسعود. بررسی آماری عفونت نوزادان طی سال های ۷۱-۱۳۶۹ در بیمارستان حضرت علی (ع) اصفهان. تهران. پایان نامه جهت دریافت فوق تخصص نوزادان، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران، ۱۳۷۲

۹. نیکوش سولماز. بررسی عوامل شایع باکتریایی عفونت خون و ارزش به موقع تشخیص عفونت در اطفال صفر تا ۱۲ ساله در مرکز پزشکی کودکان تبریز. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تبریز، ۱۳۷۱

10. Grandsen WR, Eykyn SJ, Philips I. Septicemia in the newborn and elderly. *J Antimicrob Chemother* 1994; 34:101-19

11. Krugman S, Katz S. *Infectious diseases of the children*. St Louis, C V Mosby Co, 1992, 402-18

12. Agrawal M, Chaturved Dey S K et al. Coagulase negative staphylococcal septicemia in newborns. *Indian Pediatr* 1990; 27: 163-9

13. Elbashir AM, Malik A G, Khot AP. Bloodstream infections microorganisms, risk factors and mortality rate in Quatif Central Hospital. *Annals of Saudi Medicine* 1998; 18: 176-80

خاص تحقیق است. لذا این نتایج قابل تعمیم به سایر بیمارستان های شهر نخواهد بود و با توجه به اهمیت موضوع لازم است تحقیقی در سطح وسیع تر و با ابعاد و نمونه های بیش تر انجام شود.

* مراجع :

1. Remington J, Klein J. *Infectious diseases of the fetus newborn infant Philadelphia*, W B Saunders Co, 1995, 835-78
2. Singer JI, Vest J, prints A. Occult bacteremia and septicemia in the febrile child younger than two years. *Emerg Med Clin North Am* 1995; 13: 381-416
3. Klein JO. Bacteriology of neonatal sepsis. *Pediatr Infect Dis J* 1990; 9:778
4. Tsai MJ, Teng CJ, Teng RJ *et al*. Nectrotizing bowel lesions complicated by pseudomonas septicemia in previously healthy infants. *Eur J Pediatr* 1996; 155: 216-8
۵. بیماری های نوزادان نلسون ۱۹۹۶. ترجمه علی زاهدی، روزبه رصدی، وفا طباطبائی. چاپ دوم، نشر اشتیاق، تهران، ۱۳۷۶، ۸۱-۱۷۷
6. Baron EJ, Finegold SM. *Diagnostic microbiology*. 9th ed, St Louis, C V Mosby Co, 1990, 485-91
۷. حق شناس ایرج. بررسی عفونت در بخش نوزادان