مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۹، شماره ۱/ فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۶/ ۱۲۵-۱۱۷

مقاله پژوهشی

شناسایی مولکولی و بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی استافیلوکوک های کوآگولاز منفی جدا شده از عفونت خون کودکان و نوزدان بستری شده در بیمارستان غرضی سیرجان، کرمان

زهرا فروزنده، محمد جواد سلطانی بناوندی*، بابک خیرخواه

گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سیرجان، کرمان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۱/۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۲۸

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 18:44 +0430 on Friday July 20th 2018

چکیده:

زمینه و هدف: **عفونت خون (سپسیس) یکی از جدی ترین بیماری های عفونی نوزادان وکودکان است که می تواند به طور بالقوه تهدیدکننده حیات باشد. هدف از انجام این مطالعه، شناسایی و بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی استافیلوکوک کوآگولاز منفی در عفونت های خون نوزدان و کودکان بستری شده در بیمارستان غرضی سیرجان می باشد.**

روش بررسی: **در این مطالعه توصیفی- مقطعی، تعداد ۱۴۰ نمونه خون مربوط به نوزادان و کودکان بستری شده در بخش NICU و بخش اطفال که مشکوک به عفونت خون بودند تحت نظر پزشک متخصص اطفال، جمع آوری شد. پس از جمع آوری نمونه های خون در بطری های کشت خون، تست های مختلف بیوشیمیایی، میکروبی و مولکولی (PCR) جهت شناسایی عامل سویه های استافیلوکوک کواگولاز منفی انجام شد. تست حساسیت آنتی بیوتیکی توسط روش دیسک دیفیوژن بر اساس دستورالعمل CLSI انجام گرفت.**

یافته ها: **از تعداد ۱۴۰ نمونه خون، ۱۰ سویه CoNS جدا شد که با بررسی کشت های مربوط به لوله های حاوی EDTA و تأیید مولکولی مشخص شد که ٦ جدایه، استاف اپیدرمیدیس می باشند. نتایج حاصل از آزمون انتشار از دیسک (تست کربی- بائر) نشان داد که بیشترین حساسیت به ونکومایسین و نووبیوسین و بیشترین مقاومت به سفتریاکسون، سفکسیم و سفالوتین بود. در این مطالعه نیمی از سویه ها (۵۰٪) دارای فنوتیپ مقاومت به اگزاسیلین بودند و بنابراین به عنوان استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین (MRSE) در نظر گرفته شدند.**

نتیجه گیری: **استافیلوکوک کواگولاز منفی (استافیلوکوک اپیدرمیس) از شایع‌ترین سپسیس محسوب می شوند. حساسیت و سرعت عمل PCR جهت شناسایی این گونه باکتری ها در شرایط اورژانسی مفید می باشد.**

واژه های کلیدی: **شناسایی، استافیلوکوکوس های کوآگولاز منفی، مقاومت آنتی بیوتیکی، سپسیس نوزادی.**

مقدمه:

عفونت خون (سپسیس) یکی از جدی‌ترین بیماری های عفونی نوزادان و کودکان است که می تواند بالقوه تهدید کننده حیات باشد. طبق آمار سازمان بهداشت جهانی (WHO)، میزان مرگ و میر این بیماری در نوزادان حدود ۵ میلیون در سال می باشد و ۹۸٪ از این تعداد در کشورهای در حال توسعه رخ می دهد (۱). در حال حاضر نوزادان مبتلا به سپتی سمی بخش بزرگی از بیماران بستری در بخش نوزادان را تشکیل می دهند و نیروی انسانی و هزینه بالایی را هم از نظر ارزیابی‌های تشخیصی و هم از نظر هزینه‌های درمانی خود اختصاص می دهد. بنابراین انجام اقداماتی در جهت پیشگیری از این بیماری بسیار مهم است. به صورتی که عوامل خطرساز در

***نویسنده مسئول:** کرمان- دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان- گروه میکروبیولوژی- تلفن: ۰۹۱۳۱۹۹۲۶۳۹، E-mail: mj.soltani@yahoo.com*

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 18:44 +0430 on Friday July 20th 2018

بروز سپتی سمی را در نوزادان و مادران شناسایی کرده و با برطرف نمودن آن ها گام موثری در پیشگیری از این بیماری انجام داد (۲). در کشورهای درحال توسعه باکتری های گرم مثبت شایع‌ترین عوامل ایجادکننده باکتریمی کسب شده از بیمارستان هستند (۶-۳). در مطالعاتی که در کشور ما انجام شده است، باکتری های گرم منفی شایع‌ترین عامل عفونت های باکتریال بیمارستانی گزارش شده اند (۹-۷). در نوزادان و کودکان معمولاً در اکثر موارد عامل سپسیس، باکتری ها و از جمله استافیلوکوک های کواگولاز منفی (CoNS) هستند (۱۰). CoNS شایع ترین عامل سپتی سمی بیمارستانی به ویژه در بخش های مراقبت ویژه و استفاده کنندگان از کاتتر داخل عروقی است (۱۱). این ارگانیسم ها یکی از عوامل مهم در عفونت های بیمارستانی هستند که به اکثر آنتی بیوتیک های موجود مقاوم می باشند (۱۲). مقاومت آنتی بیوتیکی در میان استافیلوکوک کواگولاز منفی بیشتر اکتسابی است و به مصرف آنتی بیوتیک های وسیع الطیفی مربوط می گردد (۱۳).

واکنش زنجیر پلیمراز (PCR) یک روش ژنوتیپی اختصاصی می باشد که با ویژگی و حساسیت بالا می تواند به سرعت عامل عفونی را تشخیص دهد. با توجه به اهمیت CoNS در نوزادان و اطفال و با توجه به این که اکثر عفونت های حقیقی با این ارگانیسم به اشتباه آلودگی بطری های کشت خون و یا فلور طبیعی تصور می شوند و با توجه به این که کاهش مرگ و میر دوران نوزادی یکی از اهداف مهم برنامه های بهداشتی درمانی می باشد، لذا تعیین عوامل مستعدکننده و راه های پیشگیری از بروز عفونت و همچنین تشخیص به موقع عفونت خونی می تواند کمک موثری در درمان و کاهش مرگ و میر ناشی از آن نماید. هدف از انجام مطالعه حاضر، شناسایی مولکولی استافیلوکوک کوآگولاز منفی و بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی آن ها در عفونت های خون نوزدان و کودکان بستری شده در بیمارستان غرضی سیرجان می باشد.

روش بررسی:

این مطالعه توصیفی– مقطعی در طی یک بازه زمانی ۶ ماهه (از ابتدای تیر لغایت انتهای آذر ۱۳۹۴) انجام شد. ۱۴۰ نمونه خون از نوزادان و کودکان بستری شده در بخش NICU و اطفال که مشکوک به عفونت خون بودند، تحت نظر پزشک متخصص اطفال، در بطری های استریل که حاوی ۵۰ میلی لیتر محیط کشت برین هارت انفوزیون براث (BHI) (مرک، آلمان) جمع آوری شد. از هر یک از بیماران معمولا دو یا سه بار کشت خون گرفته شد. مقداری محیط مایع درون بطری های کشت خون را به فواصل ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و یک هفته بعد به درون آگار خون دار(حاوی ۵٪ خون گوسفند)، ائوزین متیلن بلو (EMB) و شکلات آگار (همگی ساخت شرکت مرک، کشور آلمان) پاساژ داده و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری نموده شد. سپس شناسایی کلنی های رشد یافته با استفاده از تست های رنگ آمیزی گرم، کاتالاز، کواگولاز، حساسیت به نوبیوسین و نیز رشد بر روی محیط مانیتول سالت آگار (MSA) مورد ارزیابی قرار گرفت. در تمام مراحل اجرای پروژه از استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ATCC 25923 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. حساسیت آنتی بیوتیکی سویه ها با استفاده از روش انتشار از دیسک و بر روی محیط مولر هینتون آگار (MHA) (ساخت شرکت مرک، کشور آلمان) و بر اساس دستورالعمل موسسه استاندارد آزمایشگاه و بالین (CLSI) و برای ۱۲ دیسک آنتی بیوتیکی مختلف از جمله: سفوتاکسیم، ایمی پنم، سفالوتین، اگزاسیلین، آمیکاسین، آموکسی سیلین، سفتریاکسیون، وانکومایسین، سفالکسین، جنتامایسین، سفکسیم و نوبیوسین (تهیه شده از شرکت هایمدیای- هندوستان) انجام شد (۱۳). DNA با استفاده از کیت DNA سیناژن (Cell culture, Tissues, Gram negative Bacteria and CSF) استخراج گردید. واکنش PCR برای شناسایی ژن های *Se-fib* و *SPP*(*IS431*) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام شد (جدول شماره ۱).

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 18:44 +0430 on Friday July 20th 2018

جدول شماره ۱: توالی الیگونوکلئوتیدی آغازگرهای استفاده شده

طول قطعه (bp)	توالی پرایمر (۳′→۵′)	قطعه مورد نظر	هدف از تکثیر
445bp	F-5′-AGGATGTTATCACTGTAGCC-3′ R-5′ -GATGTACAATGACAGTCAGG-3′	*IS431*	شناسایی گونه های مختلف CoNS
720bp	F-5′-AGTACAGAACCGTTATGCCTGGCT-3′ R-5′ -TGATGAGTCAATTCGTGCTCCCGT-3′	*Se-fib*	شناسایی استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس

سپس، واکنش PCR به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر از PCR master mix 5X (سیناکلون، ایران) حاوی Taq DNA polymerase (0.08 U/µl)، $MgCl_2$ (3 mM) و dNTPs (0.4 mM)، ۰/۵ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها برای هر ژن به غلظت ۰/۸ میکرومولار، ۰/۵ میکرولیتر از DNA الگو (۱۰ ng) و ۱۸/۵ میکرولیتر آب دیونیزه استریل با استفاده از گرادیانت ترموسایکلر (اپندروف، آلمان) برای ۳۵ سیکل انجام گرفت. برای ژن *SPP(IS431)* مرحلهٔ واسرشتگی در دمای ۹۴ درجه سلیسوس به مدت یک دقیقه، مرحله ی اتصال پرایمرها در ۴۹/۵ درجه سلیسوس به مدت یک دقیقه و مرحله ی طویل سازی در ۷۲ درجه سلیسوس به مدت یک دقیقه انجام گرفت. همچنین، برای ژن *se-fib* نیز مراحل و زمان های گفته شده به استثناء مرحله اتصال پرایمرها در ۶۰/۵ درجه سلسیوس انجام گرفت. در پایان، محصولات واکنش PCR در ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی اتیدیوم بروماید (0.5 µg/ml) الکتروفورز گردید و با استفاده از دستگاه Gel Doc ثبت گردید.

یافته ها:

از ۱۴۰ نوزاد و کودک مورد مطالعه، ۵۹ (۴۲/۱٪) نفر دختر و ۸۱ (۵۷/۸٪) نفر نیز پسر بودند که تولد ۹۳ نفر (۶۶/۴٪) از آن ها به صورت سزارین مابقی ۴۷ مورد (۳۳/۵٪) به همراه زایمان طبیعی بود. این نوزادان بنا بر تشخیص پزشکان متخصص اطفال و نوزادان به علت داشتن علایم سپسیس در بخش نوزادان بستری شده بودند (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲: اطلاعات دموگرافیک جمعیت مورد مطالعه

وزن (بر حسب کیلو گرم)	۲-۱ کیلو	۹ مورد
	۳-۲ کیلو	٤٦ مورد
	٤-۳ کیلو	۳٤ مورد
	٥-٤ کیلو	۱۰ مورد
	٦-٥ کیلو	۸ مورد
	۱۰-٦ کیلو	۱٦ مورد
	۲۰-۱۰ کیلو	۱۷ مورد
	۳۰-۲۰ کیلو	۲ مورد
انواع علایم بالینی بیمار (شرح حال بیماران)	ناله کردن (گرانتینگ)	۱۸مورد
	پنومونی	۱٤مورد
	ایکتر (زردی یا یرقان)	٦ مورد
	نارس بودن	۹ مورد
	آپنه	۲ مورد
	اسهال و استفراغ	۸ مورد
	پورفیدینگ	۱۱ مورد
	دیسترس تنفسی	۱۰ مورد
	شیگلوزهمراه با تب	۳ مورد
	التهاب غدد لنفاوی	۲ مورد
	پنتوتراکسی	۱ مورد
	بی حالی	۱ مورد
	سلولیت آرنج و زانو	۲ مورد
	آنفلوانزا	۱ مورد
	هایپوگلاسمی	۲ مورد
	سینوزیت	۲ مورد
	بلع جسم خارجی	۱ مورد
	کاهش رشد داخل رحمی	۱ مورد
	آبله مرغان	۱ مورد
	گلونیکال	۱ مورد
	آنمی	۱ مورد
	عفونت ادراری	۲ مورد
	گلودرد	۳ مورد
	دیابت حاملگی	۲ مورد
	پارگی کیسه آمونیومی	۱ مورد
	سپسیس	۳ مورد
	تب	۳۲ مورد
سن افراد مورد مطالعه	یک روزه تا ٤۰ روزه	۷٥ مورد
	یک ساله	۱٦ مورد
	شیرخوار ٤٥ روزه تا ۱/٥ ساله	۳۳ مورد
	۹-۲ ساله	۳۲ مورد

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 18:44 +0430 on Friday July 20th 2018

در مطالعه پیش رو از مجموع ۱۴۰ نمونه خون اخذ شده، تعداد ۱۰(۷/۱٪) جدایه استافیلوکوک کواگولاز منفی در کشت خون به دست آمد که ۶ مورد (۶۰٪) دختر (نوزاد ۴۵ روزه، ۵۴ روزه، شیرخوار ۹ ماهه، ۶ ماهه، ۱۴ ماهه و ۲ سال و ۰/۵ بودند که با علایم سلولیت ناحیه زانو، مشکل تنفسی، اسهال، آنمی، پنومونی و تب بستری شده بودند. نوع زایمان مادر این دختران ۴ مورد (۶۶/۶٪) طبیعی و ۲ مورد (۳۳/۳٪) سزارین بود. همچنین ۴ مورد (۴۰٪) از پسرانی که در بلاد آگار کشت خون آن ها از نظر وجود CoNS مثبت شده بود که این نوزادان ۲۸ روزه، یک روزه، ۵۶ روزه، شیرخوار ۶ ماهه بودند که با علایمی از قبیل؛ پنومونی، گرانتینگ و تب بستری شده بودند. نوع زایمان مادر این پسران، ۳ مورد (۷۵٪) سزارین و یک مورد (۲۵٪) طبیعی بود و وزن آن ها ۴ کیلوگرم، ۲ کیلوگرم، ۳ کیلوگرم و ۰/۵ کیلوگرم و ۸ کیلوگرم بود؛ همچنین ۲۲ (۱۵/۷٪) نمونه خون از لوله های حاوی EDTA جهت بررسی در اختیار گرفت که نتایج کشت و PCR این نمونه ها ۶ جدایه (۲۷/۳٪) استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس بود. نتایج حاصل از آزمون انتشار از دیسک (تست کربی- باثر) نشان داد که بیشترین حساسیت به ونکومایسین و نووبیوسین بود و بیشترین مقاومت به سفتریاکسون، سفکسیم و سفالوتین گزارش شد (جدول شماره ۳).

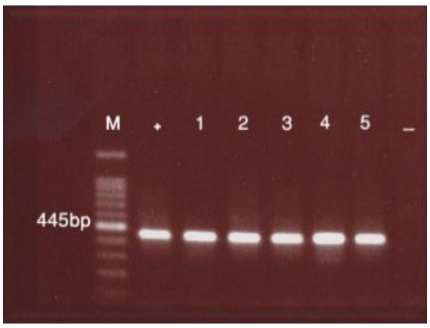
جدول شماره ۳: نتایج تست حساسیت آنتی بیوتیکی

نتیجه آزمایش آنتی بیوتیک	مقاوم (R)	نیمه حساس (I)	حساس (S)
سفالوتین (CF)	٤(٦٦/٦٪)	١(١٦/٦٪)	١(١٦/٦٪)
سفوتاکسیم (CTX)	٢(٣٣/٣٪)	–	٤(٦٦/٦٪)
وانکومایسین (V)	٠	٠	٦(١٠٠٪)
سفتریاکسیون (CRO)	١(١٦/٦٪)	–	٥(٨٣/٣٪)
اگزاسیلین (OX)	٣(٥٠٪)	–	٣(٥٠٪)
آمیکاسین (AN)	١(١٦/٦٪)	١(١٦/٦٪)	٤(٦٦/٦٪)
آموکسی سیلین (AM)	٣(٥٠٪)	١(١٦/٦٪)	٢(٣٣/٣٪)
سفالکسین (CN)	٤(٦٦/٦٪)	–	٢(٣٣/٣٪)
جنتامایسین (GM)	١(١٦/٦٪)	–	٥(٨٣/٣٪)
سفکسیم (CFM)	٤(٦٦/٦٪)	١(١٦/٦٪)	١(١٦/٦٪)
نووبیوسین (N)	٠	٠	٦(١٠٠٪)

در این مطالعه نیمی از سویه ها (۵۰٪) دارای فنوتیپ مقاومت به اگزاسیلین بودند و بنابراین به عنوان استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به متی سیلین (MRSE) در نظر گرفته شدند. نتایج تأییدی تست مولکولی اثبات نمود که در تمامی ۱۰ ایزوله CoNS و ۶ جدایه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ۳ دختر و ۳ پسر مبتلا به باکتریمی ناشی از این ارگانیسم بودند (دختران: نوزاد ۴۰ روزه، ۴۵ روزه و ۱ سال و ۰/۵ بودند که با علایم تب و مشکل تنفسی و تشنج بستری شده بودند. نوع زایمان مادران آن ها هر ۳ سزارین و وزن آن ها ۲ کیلوگرم، ۳ کیلوگرم و ۱۲ کیلوگرم بود) (پسران: نوزاد ۱ روزه، ۵ ماهه و ۱ ساله که با علایم گرانتینگ (برقراری)، تشنج و اسهال بستری شده بودند. نوع زایمان مادران آن ها نیز سزارین بود و وزن آن ها ۲/۵ کیلوگرم، ۹ کیلوگرم و ۱۱ کیلوگرم بود. نتیجه بلاد کالچر و PCR در ۲ نوزاد پسر و دختر برای استاف اپیدرمیدیس مثبت

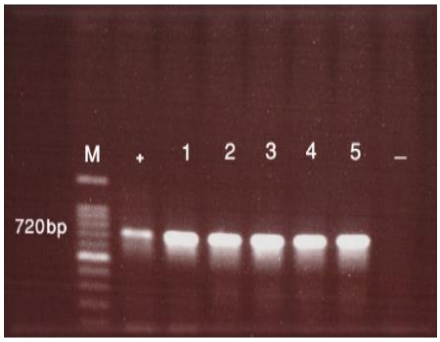
Downloaded from journal.skums.ac.ir at 18:44 +0430 on Friday July 20th 2018

بود. این نوزاد دختر ۴۵ روزه، نوع زایمان مادر سزارین، وزن ۱۴ کیلوگرم و علت بستری آن پنومونی بود. این نوزاد پسر نیز ۱ روزه، نوع زایمان مادر سزارین با وزن حدود ۲/۵ کیلوگرم و علایم بستری گرانتینگ (ناله کردن) بود. نتایج حاصل از تکثیر قطعات *IS431* و *se-fib* در تصویر شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است.



تصویر شماره ۱: تصویر ژل اکتروفورز *IS431* در ۵ ایزوله انتخابی

*از سمت چپ به ترتیب ستون **M**: مارکر **bp 100 DNA pulse marker** (سیناژن، ایران) و ستون مثبت: کنترل مثبت (استاف اپیدرمیدیس **ATCC25923**) و ستون ۵-۱ کلنی های رشد کرده و شناسایی شده به عنوان **CoNS** از بیماران و ستون منفی: کنترل منفی (بلانک).*



تصویر شماره ۲: تصویر ژل اکتروفورز *se-fib* در ۵ ایزوله انتخابی

*از سمت چپ به ترتیب ستون **M**: مارکر **bp100 DNA pulse marker** (سیناژن، ایران) و ستون مثبت: کنترل مثبت (استاف اپیدرمیدیس **ATCC25923**) و ستون ۵-۱ کلنی های شناسایی شده به عنوان استاف اپیدرمیدیس از بیماران و ستون منفی: کنترل منفی (بلانک).*

بحث:

عفونت خون (سپسیس) یکی از جدی‌ترین بیماری های عفونی نوزادان و اطفال است که می تواند بالقوه تهدید کننده حیات باشد. سپسیس ممکن است توسط طیف وسیعی از میکروارگانیسم های گرم مثبت و گرم منفی و قارچ ها ایجاد شود که می تواند از یک عفونت موضعی بدون علامت تا شوک سپتیک متغیر باشد (۱۵،۱۴).

عوامل تعیین کننده عفونت شامل فاکتورهای مربوط به میزبان، روش های تهاجمی قبلی، استفاده ازکاتتر، استفاده از آنتی بیوتیک ها و مواجه با بیماران دیگر می باشد. فاکتورهای مربوط به میزبان شامل آسیب به پوست، اختلال عملکرد اعضا، سوء تغذیه و بیماری های زمینه ای یا ناخوشی های هم زمان می باشد. بیماری ها و درمان هایی که ایمنی را تغییر می دهد بیش از همه زمینه ساز عفونت هستند (۱۶). کاتترها دفاع مکانیکی میزبان را دور می زنند و دسترسی مستقیم به نواحی استریل را فراهم می نماید و می توانند باعث عفونت های سیستمیک (باکتریمی و فونگمی) شوند (۱۷). عفونت خون (سپسیس شدید) همچنان یکی از علل مرگ در کودکان است و هزینه ملی زیادی را در بر می گیرد (۱۸،۱۴). در واقع استافیلوکوک های کواگولاز منفی به عنوان پاتوژن های مهم در عفونت های بیمارستانی مطرح هستند (۱۹). استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس باکتری گرم مثبت و کواگولاز منفی است که به طور اولیه فلور نرمال پوست سالم انسان و به عنوان باکتری کامنسال می باشد. در سال های اخیر این باکتری به عنوان عامل شایع عفونت های بیمارستانی مطرح شده است (۲۰). استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در بیماران ایمونوساپرس و بیمارانی که به مدت طولانی در بیمارستان ها بستری می شوند، بیماری زایی بیشتری دارد و در بین استافیلوکوک های کواگولاز منفی ۹۲-۷۴٪ موارد از عفونت های خون در بیمارستان را به خود اختصاص می دهد (۲۲،۲۱). این باکتری در تولید بیوفیلم دخالت

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 18:44 +0430 on Friday July 20th 2018

دارد و به راحتی به کاتتر و شانت‌ها می چسبد و به واسطه این مکانیسم خود را از اثرات عوامل ضدمیکروبی حفظ می کند (۲۳). در مطالعه حاضر، بیشترین حساسیت به ونکومایسین و جنتامایسین و نیز بیشترین مقاومت به سفتریاکسون و اگزاسیلین بود. در مطالعه ای که در کشور ترکیه انجام شد، استافیلوکوک های کواگولاز منفی و اورئوس به عنوان شایع ترین سویه های گرم مثبت و کلبسیلا و سودوموناس آئروژینوزا به عنوان سویه های گرم منفی غالب شناخته شدند. در پژوهشی در کشور هند انجام شد، استافیلوکوک کواگولاز منفی و اورئوس ارگانیسم های غالب گرم مثبت و کلبسیلا و انتروباکتر ارگانیسم های شایع گرم منفی بودند. بیشترین حساسیت سویه های گرم مثبت به وانکومایسین و سویه های گرم منفی به سیپروفلوکساسین و کمترین حساسیت سویه های گرم مثبت به پنی سیلین و سویه های گرم منفی به آمپی سیلین گزارش شده است. آسیفکسی حین تولد و نارس بودن نیز عوامل خطرزای اصلی عفونت خون نوزادان در این پژوهش بودند (۲۴). اساس مطالعات مشابهی که در کشورهای مکزیک، استرالیا، پاکستان، عربستان، نیجریه و ایران در شهر تبریز انجام پذیرفت، استافیلوکوک کواگولاز منفی ارگانیسم اصلی گرم مثبت و کلبسیلا و سودوموناس به عنوان ارگانیسم شایع گرم منفی مسبب عفونت خون در نوزادان معرفی گردیدند. در اکثر این مطالعات استفاده از درمان های تهاجمی در بخش مراقبت های ویژه نوزادان و افزایش طول مدت بستری در بیمارستان از علل مساعدکننده عفونت خون با استافیلوکوک کواگولاز منفی بوده است (۲۵).

در مطالعه انجام شده توسط کالمن هم شایع ترین میکروارگانیسم های جدا شده استافیلوکوک کواگولاز منفی و استافیلوکوک اورئوس و استرپتوکوک بتاهمولیتیک بودند. در مطالعه انجام شده توسط شفیعی نیز در تبریز، بیشترین عامل زمینه ای پره ماچوریتی با شیوع ۴۳/۳٪ بود. عوامل بیماری زای میکروبی متعددی در ایجاد عفونت خون نوزادان دخیل می باشند. اگرچه در مطالعات گذشته و نیز در کشورهای پیشرفته باکتری های گرم منفی شایع ترین عامل عفونت خون گزارش شده اما در بسیاری از مطالعات اخیر نقش استافیلوکوک کواگولاز منفی به عنوان عامل اصلی مسبب عفونت خون نوزادان تأیید شده است (۲۷،۲۶). در دهه های پیشین، استافیلوکوک کواگولاز منفی را همیشه به اشتباه آلودگی محیط کشت می پنداشتند، در حالی که در زمان حاضر، شایع ترین عامل باکتریمی بیمارستانی است خصوصاً در کودکان و نوزادان و بخش مراقبت های ویژه که استفاده از کاتترها و پروتزها و وسایل مصنوعی رایج است (۲۸). در مطالعه حاضر، شایع ترین علت باکتریمی در کودکان و نوزادان کواگولاز منفی (استافیلوکوک اپیدرمیدیس) بود که با مطالعه فرنیا و هاشمی و همکاران مطابقت داشت، ولی با نتایج حق شناس و مشعوف و شریف همخوانی ندارد که می تواند به این دلیل باشد که انتروباکتریاسه ها در مطالعه آن ها شایع ترین عوامل بودند.

نتیجه گیری:

استافیلوکوک کواگولاز منفی (استافیلوکوک اپیدرمیس) از شایع ترین عوامل باکتریمی بیمارستانی و عفونت خون خصوصاً در کودکان و نوزادان است. حساسیت و سرعت عمل PCR جهت شناسایی این گونه باکتری ها در شرایط اورژانسی مفید می باشد.

تشکر و قدردانی:

این مقاله قسمتی از پایان نامه ی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی می باشد که در تاریخ ۱۳۹۴/۲/۱۵ در دانشگاه آزاد اسلامی سیرجان با شماره ی ۳۴۸۲۱۷۰۲۳۰۲۳ به تصویب رسیده است. نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند که از همکاران و پرسنل محترم بخش میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سیرجان تقدیر و تشکر نمایند.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 18:44 +0430 on Friday July 20th 2018

منابع:

1. Mohammed D, El Seifi OS. Bacterial nosocomial infections in neonatal intensive care unit, Zagazig University Hospital, Egypt. Egypt Pediatr Assoc Gaz. 2014; 62(3): 72-9.
2. Dasgupta S, Das S, Chawan NS, Hazra A. Nosocomial infections in the intensive care unit: Incidence, risk factors, outcome and associated pathogens in a public tertiary teaching hospital of Eastern India. Indian J Crit Care Med. 2015; 19(1): 14-20.
3. Christina N, Ioanna P, George L, Konstantinos T, Georgios S. Risk Factors for Nosocomial Infections in Neonatal Intensive Care Units (NICU). Health Sci J. 2015; 9(2:9): 1-6.
4. Usha M, Shwetha D, Vishwanath G. Speciation of coagulase negative Staphylococcal isolates from clinically significant specimens and their antibiogram. Indian J Pathol Microbiol. 2013; 56(3): 258.
5. Pawar A, Raut A, Kalrao V, Jacob J, Godha I, Thomas R. Etiology and clinical outcomes of neonatal and pediatric sepsis. Arch Ped Infect Dis. 2016; 4(2); 66-9.
6. Sohn AH, Garrett DO, Sinkowitz-Cochran RL, Grohskopf LA, Levine GL, Stover BH, et al. Prevalence of nosocomial infections in neonatal intensive care unit patients: Results from the first national point-prevalence survey. J Pediatr. 2001; 139(6): 821-7.
7. Salamati P, Rahbarimanesh AA, Yunesian M, Naseri M. Neonatal nosocomial infections in Bahrami Children Hospital. Indian J Pediatr. 2006; 73(3): 197-200.
8. Stover BH, Shulman ST, Bratcher DF, Brady MT, Levine GL, Jarvis WR, et al. Nosocomial infection rates in US children's hospitals' neonatal and pediatric intensive care units. Am J Infect Control. 2001; 29(3): 152-7.
9. Ghotbi F, Raghib Motlagh M, Valaei N. Nosocomial sepsis in NICU department in Taleghani Hospital. J Shaheed Beheshti. Univ Med Sci. 2005; 29(4): 313-7.
10. Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB: Nelson textbook of pediatrics. 17th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2014: 861-867.
11. Martin MA, Silverman HJ. Gram-negative sepsis and the adult respiratory distress syndrome. Clin Infect Dis. 1992; 14(6): 1213-28.
12. Swartz MN. Use of antimicrobial agents and drug resistance. N Engl J Med. 1997; 337(7): 491-2.
13. Van der Zwet WC, Kaiser AM, van Elburg RM, Berkhof J, Fetter WP, Parlevliet GA, et al. Nosocomial infections in a Dutch neonatal intensive care unit: Surveillance study with definitions for infection specifically adapted for neonates. J Hosp Infect. 2005; 61(4): 300-11.
14. Kaplan SL, Vallejo JG. Systemic infectious disease. In: Feigin RD, Cherry JD, Demmler-Harrison GJ, Kaplan SL, editors. Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia: PA: Saunders Elsevier; 2010: 837.
15. Palazzi DL, Klein JO, Baker GJ. Bacterial sepsis and meningitis. In: Remington JS, Klein Jo, Wilson CB. Infectious disease of the Fetus and newborn infant. 6th ed. Philadelphia: Elsevier and Saunders; 2006: 247-296.
16. Burke JP. Infection control : A problem for patient safety. N Engl J Med. 2003; 348(7): 651-6.
17. Nowak JE, Brilli RJ, Lake MR, Sparling KW, Butcher J, Schulte M, et al. Reducing catheter-associated bloodstream infections in the pediatric intensive care unit: Business case for quality improvement. Pediatr Crit Care Med. 2010; 11(5): 579-87.
18. Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BM. Nelson textbook of pediatrics: Elsevier Health Sciences; 2007.
19. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey and scoott's: Diagnostic microbiology. 11th ed. USA: Mosby Inc, 2002: 250-81.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 18:44 +0430 on Friday July 20th 2018

20. Lim SM, Webb SA. Nosocomial bacterial infections in Intensive Care Units. I: Organisms and mechanisms of antibiotic resistance. Anaesthesia. 2005; 60(9): 887-902.
21. Ziebuhr W. Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis: emerging pathogens in nosocomial infections. Contrib Microbiol. 2001; 8: 102-7.
22. Howden BP, Davies JK, Johnson PD, Stinear TP, Grayson ML. Reduced vancomycin susceptibility in Staphylococcus aureus, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. Clin Microbiol Rev. 2010; 23(1): 99-139.
23. Bowker KE, Noel AR, MacGowan AP. Pharmacodynamics of dalbavancin studied in an in vitro pharmacokinetic system. J Antimicrob Chemother. 2006; 58(4): 802-5.
24. Nandi-Lozano ME, Perez-Delgadillo MA, Avila-Figueroa C. Bacteremia and pseudobacteremia caused by coagulase-negative Staphylococcus in children. Gac Med Mex. 2001; 137(2): 97-103.
25. Mokuolu AO, Jiya N, Adesiyun OO. Neonatal septicaemia in Ilorin: Bacterial pathogens and antibiotic sensitivity pattern. Afr J Med Med Sci. 2002; 31(2): 127-30.
26. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Chest. 1992; 101(6): 1644-55.
27. Chapman I, Stoll B. Nosocomial infection in the nursery. In: Taeusch HW, Ballard RA, Gleaso CA. Avery's Diseases of the Newborn. 8th ed. USA; Philadelphia: Saunders; 2004: 578-90.
28. Yousefi Mashouf R. Distribution of septicemia and drug susceptibility of bacteria to antibiotics, Hamedan, 1998-1999. Babol Univ Med Sci J. 2000: 4(2): 34-40.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2017; 19(1): 117-125.

Original article

Molecular identification and evaluation of antibiotic resistance of coagulase negative Staphylococcus isolated from Neonatal Sepsis hospitalized at Gharazi Hospital in Sirjan, Kerman

Forouzandeh Z, Soltani Banavandi MJ*, Kheyrkhah B
Microbiology Dept., Sirjan Branch, Islamic Azad University, Kerman, I.R. Iran.
Received: 18/Nov/2014 Accepted: 26/Apr/2015

Background and aims: Sepsis is one of the serious infectious diseases in the neonates and infants that is potentially life threatening. The aim of the current study was to identify coagulase negative Staphylococcus and their antibiotic resistance patterns in Neonatal Sepsis in the neonates and infants hospitalized at Ghrazi Hospital, Sirjan.
Methods: In the cross-sectional study, 140 blood samples were obtained from neonates and infants hospitalized in a period of time from June to November 2015 in the Sirjan, Kerman and then evaluated based on many items such as: BC(blood culture)/sex/age/admission date/weight/type of birth/admission ward/clinical findings/predisposing factors. All of these informations were acquired from patients profile. All of the isolated *S. epidermidis* strains were confirmed by PCR. Antibiotic susceptibility test was performed by disk diffusion method.
Results: of 140 blood samples, 10 CoNS strains were isolated. Evaluation of EDTA tube and molecular identification confirmed that 6 isolates were *S. epidermidis*. The results of disk diffusion test showed that most of them were susceptible to vancomycin and novobiocin and the most of them were resistance to cefixime, ceftriaxone and Cephalexin. In the work, half of strains (50%) were resistance to oxacillin. So, they were methicillin resistance *S. epidermidis* (MRSE).
Conclusion: Coagulase negative Staphylococcus (*S. epidermidis*) is most common cause of sepsis. The specificity and sensitivity of PCR for detection of this strains in the emergency condition was useful.

***Keywords*: Identify, Coagulase negative staphylococcus, Antibiotic resistance, Neonatal sepsis.**

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 18:44 +0430 on Friday July 20th 2018

Cite this article as: Forouzandeh Z, Soltani Banavandi MJ, Kheyrkhah B. Molecular identification and evaluation of antibiotic resistance of coagulase negative Staphylococcus isolated from Neonatal Sepsis hospitalized at Gharazi Hospital in Sirjan, Kerman. J Shahrekord Univ Med Sci. 2017; 19(1): 117-125.

***Corresponding author:**
Microbiology Dept., Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, I.R Iran.
Tel: 00989131992639, E-mail: mj.soltani@yahoo.com