

### بررسی باکتریهای گرم منفی روده نوزادان کمتر از ۵ روز و فاکتور R

باهمکاری فنی توران میرعمادی (x x x)

دکتر مهلا فیروز (xx)

دکتر کیهان نانو لشگری (x)

گاهی این مقاومت به آنتی بیوتیک از یک باکتری به باکتری دیگر از گونه جداگانه در اثر کنژوگیشن انتقال می یابد و در نتیجه یک باکتری بی آزار و حساس به آنتی بیوتیک تبدیل به یک باکتری مقاوم بیک یا چندین آنتی بیوتیک میگردد انتقال این مقاومت در میان باکتریهای گروه آنترو-باکتریاسیه و بعضی باکتریهای پانوزن دیگر مانند ویبریون ویا در سراتیا مرسه سنس، پاستورلا پستیس و پسودوموناس آئروزیبوزا مشاهده گردیده است.

در آزمایشگاه میکروشناسی دانشکده علوم پایه پزشکی دانشگاه تهران طی دو سال از مدفوع نوزادان کمتر از ۵ روز در دو بیمارستان نمونه برداری انجام شده و باکتریهای مقاوم مدفوع آنها و انتقال فاکتور R مورد بررسی قرار گرفته است باید توجه داشت که در هیچیک از نوزادان قبل از برداشت نمونه مدفوع آنتی بیوتیک درمانی انجام نگرفته بود.

#### مواد و روشها

از مدفوع ۱۰۰ نوزاد کمتر از ۵ روز در بیمارستان میثاقیه و حمایت مادران و نوزادان بوسیله سواب استریل

استعمال وسیع آنتی بیوتیکها و سایر عوامل ضد باکتریایی در درمان بیماریهای عفونی در انسان از تعداد موارد مرگ و میر این بیماریها بسیار کاسته است ولی تعداد باکتریهای مقاوم به آنتی بیوتیک در اثر مساعد شدن محیط برای رشد آنها و از بین رفتن باکتریهای حساس بمراتب از گذشته بیشتر شده است.

در طی ده سال گذشته باکتریهای گرم منفی روده ای در ایجاد عفونتهای انسانی جانشین استافیلوکوک ارئوس شده اند و بر طبق آماری که از محققین مختلف بدست آمده است (۱) اکثریت این باکتریهای گرم منفی نسبت به چندین آنتی بیوتیک مقاوم بوده اند. بعلاوه مسلم گردیده است که حداقل ۵۰ درصد این باکتریها که از بیماران مختلف جدا شده اند این مقاومت را در اثر فاکتور R بدست آورده اند. فاکتور R بصورت حلقه کروموزومی مستقلی در داخل سیتوپلاسم باکتری قرار دارد و حاوی ژنهایی است که مقاومت را به یک یا چندین آنتی بیوتیک را با خود حمل میکند. در ضمن قادر است این مقاومت را به باکتریهای دیگر در اثر کنژوگیشن (در باکتریهای گرم منفی روده ای) و یا ترانس واکشن (استافیلوکوک) انتقال دهد.

گروه میکروشناسی دانشکده علوم پایه پزشکی دانشگاه تهران

میباشند برداشت نموده و روی محیط مکانیکی محتوی سدیم از اید به منظور خالص بودن کلنی‌ها کشت داده شد سپس روی این نمونه‌های خالص آنتی‌بیوگرام انجام شد تا معلوم گردد که آیا انتقال فاکتور R صورت گرفته است یا خیر . جدول شماره ۱ نوع و تعداد باکتریهای جدا شده از مدفوع نوزادان کمتر از ۵ روز را نشان میدهد . نتیجه - نوع و تعداد باکتریهای جدا شده از مدفوع نوزادان

از ۹۸ باکتری مقاوم جدا شده از مدفوع نوزادان که هر یک بیک یا چند آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند . ۳ باکتری از نوزادان بیمارستان حمایت مادران و نوزادان و ۶۸ باکتری مقاوم از نوزادان بیمارستان میثاقیه جدا گردید . از نوزادان اخیر دو اشیشیاکلی هم جدا شد که نسبت به تمام آنتی - بیوتیکها حساس بودند . در ضمن در موارد نادری از مدفوع نوزادان بیش از یک باکتری جدا گردید .

از نوزادان بیمارستان میثاقیه ۱۸ اشیشیاکلی - ۱۰ کلبسیلا - ۲ پseudomonas آئروژینوزا - ۲ پروتئوس مورگان - ۲ پروتئوس رترآجری ۱۲ کلی فرم - ۱۷ انتروباکترکلوآکسه - ۱ انتروباکتر آئروژینسن - ۱ پروویدنسن - ۱۱ ادواردسیلا و ۲ هرلا جدا گردید که نسبت به بیش از دو آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند .

نکته قابل توجه این است که یک کلبسیلا و یک پروویدنسن جدا شده از مدفوع نوزادان کمتر از ۵ روز به جنتامایسین مقاوم بودند در ضمن اشیشیاکلی ۵۸/۲ درصد کلبسیلا ۱۵ درصد - انتروباکتر ۲۰ درصد و پروتئوس ۲ درصد و سرایتا صفر درصد دارای فاکتور R بودند .

همانطوریکه در جدول ۴ مشاهده میگردد باکتریهای گرم منفی جدا شده از مدفوع نوزادان بیمارستان حمایت - مادران و نوزادان بمراتب مقاومت بیشتری نسبت به آنتی - بیوتیکها داشتند برای مثال در حالیکه ۱۰۰ درصد اشیشیا - کلی جدا شده در بیمارستان حمایت مادران و نوزادان به آمپی‌سیلین مقاوم بود این رقم در مورد بیمارستان میثاقیه فقط ۳۷/۵ درصد را نشان میداد و یا انتروباکتر که ۹۲/۳ درصد به آمپی‌سیلین - تتراسیکلین و استرپتومایسین مقاوم

نمونه برداری بعمل آمد . سوابها بلافاصله در بافر قرار داده (بافر عبارت از ۱/۲۱ گرم محلول (هیدروکسی میتل آمینوتان) ۸/۷۵ گرم کلرورسدیم و ۲/۴۷ گرم  $SO_4Mg$  و  $7H_2O$  یک لیتر آب مقطر) میباشد . PH محیط را با اسید کلریدریک به ۷/۱ رسانیده و لوله‌ها را بلافاصله پس از رسیدن به آزمایشگاه روی محیط مکانیکی کشت داده میشود . کلنی‌ها رشد کرده پس از ۱۸ تا ۲۴ ساعت مورد بررسی قرار میگرفت و تمام آزمایشات لازم - - - - - (x) (xxx) گروه میکروشناسی و ایمونولوژی دانشکده علوم پایه پزشکی دانشگاه تهران

بر طبق روش Ewing Edward ۷/ برای تشخیص کلنی‌های رشد کرده روی محیط مکانیکی انجام گرفت سپس از هر یک از باکتریهای جدا شده روی محیط brain heart infusion agar کشت داده شد و هر یک از دیسکهای زیر جهت آنتی‌بیوگرام روی محیط قرار داده شد . آمپی‌سیلین ۱۰ میکروگرم - کلرام فنیکل ۵ - تتراسیکلین ۵ - سفالوتین ۳۰ - کانامایسین ۲۰ - نگرام ۵ - دی هیدرواسترپتومایسین ۱۰ - جنتامایسین ۳۰ میکروگرم .

جهت تجسس فاکتور R باکتریهای جدا شده از مدفوع نوزادان که بیک یا چند آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند بعنوان دهنده فاکتور R برای آزمایش انتخاب شدند . برای نمونه - گیرنده از اشیشیاکلی F استفاده شد . این اشیشیاکلی به سدیم از اید مقاوم بود ولی نسبت به تمام آنتی‌بیوتیکهای مصرف شده در آزمایش کاملاً حساس میباشد جهت آزمایش دو سانتی مترمکعب از کشت تازه (۱۸ تا ۲۴ ساعته دهنده‌ها و گیرنده فاکتور R) را در ۲ سانتی مترمکعب محیط brain heart infusion broth کشت داده شد .

مخلوط به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در اتو ۳۷ درجه بدون اینکه لوله‌ها حرکت داده شوند قرار گرفت و سپس یک سواب از مخلوط روی محیط مکانیکی که محتوی غلظت مناسب از یکی آنتی‌بیوتیکهای ذکر شده در بالا و ۲۵۰ میلی‌گرم سدیم از اید در هر لیتر بود کشت داده شد .

پس از قرار دادن بواتها بمدت ۴۸ ساعت در اتو ۳۷ درجه سانتی‌گراد از کلنی‌های رشد کرده که رکومی نانت

بودند ۹۱ درصد اشریشیاکلی مقاوم به آنتی‌بیوتیک جدا گردید.

Kay در ضمن مطالعات خود در باره باکتریهای مقاوم جدا شده از مدفوع نوزادان کمتر از ۵ روز ۴۱ اشریشیاکلی ۱۶ کلبسیلا ۱۸ انتروباکتر ۹ سراپتا و ۱۶ پروتئوس جدا کرد که ۵۰ درصد پروتئوس‌های جدا شده به آمپی‌سیلین مقاوم بودند و ۷۱/۹ درصد انتروباکترها به آمپی‌سیلین مقاومت نشان دادند در ضمن ۲ کلبسیلا جدا کرد که به جنتامایسین مقاوم بود.

مقاله اخیر وجود باکتریهای گرم منفی مقاوم بیک یا چند آنتی‌بیوتیک (استرپتومایسین - تتراسیکلین - و آمپی - سیلین) را در مدفوع نوزادان کمتر از ۵ روز نشان میدهد. و این مسئله مشکل بزرگی را برای کلینیسین‌ها در درمان بیماریهای عفونی ایجاد خواهد کرد زیرا اکثر این باکتریها قادرند مقاومت خود را به باکتریهای حساس انتقال بدهند و در نتیجه آنتی‌بیوتیکهای موثر در درمان بصورت داروهای غیر موثر در درمان عفونتهای حاصله از این باکتریهای مقاوم در خواهند آمد و نکته قابل توجه مقاومت دوگونه باکتریایی به جنتامایسین است که نسبت به آنتی - بیوتیکهای دیگر بتازگی بی‌آزار عرضه شده است این نسبت درصد مقاومت شدید به آنتی‌بیوتیکها شاید مربوط به استعمال زیاد این داروها در ده سال گذشته باشد. زیرا آنتی‌بیوتیکها غیر از آنچه که در طب انسانی مصرف میشود بمقدار کم برای تسریع رشد دامها بمقدار متوسط برای پیش‌گیری بیماریها و بمقدار زیاد برای درمان بیماریهای حیوانی مورد استعمال دارد.

بودند در حالیکه انتروباکتر جدا شده در بیمارستان میناقیه ۷۵/۱ درصد نسبت به آمپی‌سیلین ۲۸/۵ درصد به تتراسیکلین و ۷۱/۴ درصد به استرپتومایسین مقاوم بودند.

### بحث

(۱) Sturlevant و همکاران مشاهده کردند که درمان با آنتی‌بیوتیک باعث ازدیاد گونه‌های مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک و همچنین پیدایش فاکتور R میگردد. در مطالعاتی که (۲) Farmer در مورد فلور طبیعی دستگاه تنفس نوزادان تحت درمان با آنتی‌بیوتیک انجام داد مشاهده کرد که ۵۰ درصد آنها کولونیزاسیون وسیعی از باکتریهای گرم منفی مقاوم به آنتی‌بیوتیک را در دستگاه تنفس فوقانی خود نشان میدهند در حالیکه در شیرخوارگاه دیگری که آنتی‌بیوتیک بندرت مورد استفاده قرار میگرفت فلور دستگاه تنفس باکتریهای غیر مقاوم و معمولی را نشان میداد (۳) James افزایش سریع باکتریهای گرم منفی مقاوم به آنتی‌بیوتیک را در هنگام آنتی‌بیوتیک درمانی و برگشت کندو آهسته آنها را بطرف فلور طبیعی پس از درمان نشان داد.

(۴) Kay در مقایسه‌ای که بین باکتریهای مقاوم جدا شده از مدفوع نوزادان کمتر از ۵ روز در بیمارستان انجام داد مشاهده کرد که در بیمارستان اول که نوزادان آنتی - بیوتیک دریافت نکرده بودند فقط ۴۶ درصد اشریشیاکلی مقاوم جدا شد در حالیکه در بیمارستان دوم که نوزادان در موقع گرفتن نمونه و یا قبل از آن تحت درمان با آنتی‌بیوتیک

جدول (۱)

۲	اشریشیا کلی لاکتوزمنفی
۱۵	اشریشیا کلی لاکتوز مثبت
۴	اشریشیاکلی بیحرکت
۲۳	کفی فرم
۱۳	کلبسیلا -
۲	پرویدنس
۱۷	انتروباکتر
۱	هرلا
۲	میما
۱	ادواردسیلا
۱	پسودوموناس پسودوماله‌ای
۱۷	پروتئوس
۱	پسودوموناس آئروزیوزا
۱	باکتریوم آتی ترانوم

جدول ۲ - نوع و مقاومت باکتریهای جدا شده از مدفوع

نوزادان بیمارستان حمایت مادران

نوع باکتری	تعداد	مقاومت به آنتی بیوتیک
آنتروباکترکلوآکه	۱	تریپل - کانا
"	۱۵	استرپتو - تریپل - تترا - آمپی - سفالوتین
"	۲	استرپتو - تریپل - تترا - آمپی - کانا - سفالوتین
پسودوموناس آئروزیوزا	۱	استرپتو - تریپل - تترا - نگرام - آمپی - کانا - سفالوتین
پسودوموناس پسودوماله‌ای	۱	استرپتو - تریپل - تترا - آمپی - کانا - سفالوتین
هاف نیا	۱	استرپتو - تریپل - تترا - آمپی - کانا - سفالوتین
آنتروباکترلیکوئی ناسیایی	۱	استرپتو - تریپل - تترا - آمپی - سفالوتین
"	۷	استرپتو - آمپی - تترا - تریپل - سفالوتین
"	۱	آمپی - نگرام
کلی فرم	۱	تریپل سولفا
"	۱	استرپتو - تترا - تریپل - آمپی - نگرام - کانا - سفالوتین
پروتداوسی مورگانی	۱	کانا - تریپل - آمپی
آنتروباکترآئروزیوزا	۱	آمپی
"	۱	استرپتو - تریپل - کانا - آمپی - نگرام - سفالوتین

جدول ۳- نوع باکتریهای جدا شده و مقاومت آنها نسبت به آنتی بیوتیکها

نوع باکتری	تعداد	نوع باکتری و مقاومت آنها (بیمارستان میناقیه)
اشریشیاکلی	۳	استرپتو - تترا - تریپل
"	۱	استرپتو
"	۱	تترا - آمپی
"	۱	تترا - آمپی - استرپتو
"	۱	تترا - استرپتو
"	۱	تترا - آمپی - کانا - استرپتو
کلسیلاکراکه	۱	کانا - استرپتو - تترا - آمپی - تریپل
"	۱	کانا - استرپتو - آمپی - تریپل - جنتا - نگرام
کلسیلا پنومونیه	۱	کانا - استرپتو - تترا - نگرام - آمپی - تریپل
"	۱	تترا - استرپتو - تریپل
"	۱	نگرام - سولفا
"	۱	نگرام - تترا - آمپی - استرپتو
"	۱	تترا - آمپی
"	۲	آمپی
پسودوموناس	۱	نگرام - استرپتو - آمپی - تریپل
آئروینوزا	۱	آمپی - تریپل
"	۱	آمپی - تریپل - تترا - نگرام - کانا
پروته اوسی مورگانی	۱	استرپتو - نگرام - تترا - آمپی - تریپل
"	۱	تترا - آمپی
پروته اوسی	۱	آمپی
"	۱	نگرام - آمپی - تریپل
کلی فرم	۳	آمپی - استرپتو
کلی فرم	۱	استرپتو - تترا - کانا - تریپل
"	۱	" " " نگرام
"	۱	آمپی - نگرام - تریپل
"	۳	سولفا - آمپی - استرپتو
"	۱	آمپی - استرپتو - نگرام
"	۱	کانا - تترا - تریپل
"	۱	تترا - استرپتو - آمپی - نگرام
آنتروباکتر کلراکه	۳	استرپتو
"	۱	تترا - آمپی - استرپتو
"	۱	آمپی - کانا - استرپتو

نگرام - آمبی	۱	"
تترا - آمبی	۱	"
تریپل - تترا - استرپتو - آمبی	۱	آنتروباکتر
جنتا - تترا - استرپتو - تریپل	۱	آئروژنس
تترا - آمبی - کانا - استرپتو	۱	ادواردوسیلا
تریپل - تترا - آمبی	۱	هرلا
آمبی - استرپتو	۱	هرلا

## جدول شماره ۴ -

مقایسه بین باکتریهای مقاوم جدا شده از مدفوع نوزادان

بیمارستان میثاقیه و حمایت مادران و نوزادان

نوع باکتری

مقاومت به

استرپتوماپسین	تتراسیکلین	آمبی سیلین	حمایت مادران و نوزادان
۹۲/۳	۹۲/۳	۹۲/۳	انتروباکتر
۸۷/۵	۸۷/۵	۱۰۰	اشریشیاکلی
			بیمارستان میثاقیه
۷۱/۴	۲۸/۵	۵۷/۱	انتروباکتر
۸۷/۵	۸۷/۵	۳۷/۵	اشریشیاکلی

## References

1. Sturlevant, A. Infect-Immun. 3: 411. 1971.
2. Farmer, K.N. Zeal, Med J. 67-541, 1968.
3. James. J. The Journal of Infectious diseases Vol. 129 No. 2 1974.
4. Kay M. Dailey. The Journal of pediatrics Vol 80 No. 2 P. 198-203, 1972.