Archive of SID

✪ مقدمه :

سپتی سمی و شوک عفونی یکی از علل مرگ و میر نوزادان و کودکان است و اغلب ناشی از عفونت با میکروارگانیسم های گرم منفی است. مطالعه های اخیر نشان داده اند که تشخیص سریع علت سپتی سمی و شوک عفونی و درمان فوری و به موقع آن با داروهای مناسب موجب کاهش مرگ و میر می شود.[۴و۵و۶] در تحقیقی که توسط ناکوی و همکاران صورت گرفت، ۱۳ درصد بیماران متعاقب عفونت با هموفیلوس انفلوآنزا نوع b، دچار شوک عفونی شدند که باعث مرگ ۶۰ درصد بیماران شد.[۷] در تحقیق ونگ و همکاران نیز ۱۱ تا ۴۰ درصد بیماران مبتلا به عفونت منینگوککی ، دچار کاهش فشار خون و علائم بالینی دال بر شروع شوک عفونی شدند.[۸]

در ایران روش های تشخیص سریع عوامل ایجاد کننده بیماری های عفونی کمتر در دسترس هستند . در حالی که با توجه به مرگ و میر فراوان متعاقب شوک عفونی ناشی از میکروارگانیسم ها، به خصوص باکتری های گرم منفی، روش های تشخیص سریع باید جزء امکانات اولیه آزمایشگاه های تشخیصی بیمارستان ها، به خصوص بیمارستان های آموزشی باشند که یکی از این روش ها آزمایش LAL است.[۴و۵و۶و۷]

این بررسی به منظور مشخص نمودن توانایی آزمایش LAL در تشخیص سریع عفونت های ناشی از باکتری های گرم منفی و مقایسه آن با کشت خون انجام شد.

✪ مواد و روش ها :

در این مطالعه تحلیلی که از آذرماه ۱۳۷۷شروع و در خردادماه ۱۳۷۸ پایان یافت، از۱۰۰ بیمار مشکوک به سپتی سمی و یا شوک عفونی بستری در بیمارستان های قدس و کوثر قزوین نمونه گیری انجام شد. از هر یک از بیماران ۱ میلی لیتر خون اخذ و به ویال های حاوی ۱۰ میلی لیتر محلول کشت خون اضافه شد. تمام کشت های

خون به صورت مضاعف انجام شد تا موارد مشکوک به آلودگی مشخص و از مطالعه حذف شوند. کشت های خون در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرارداده شدند و در فواصل زمانی ۱۶ ساعت، ۴۸ ساعت و یک هفته بر روی محیط های کشت بلاد آگار وMac Conkey agar پاساژ داده شدند. به دنبال انکوباسیون پلیت های کشت ذکرشده به مدت ۲۴ساعت، از کلونی های ایجاد شده جهت تشخیص نوع میکروارگانیسم ها، لام مستقیم تهیه شد. براساس شکل میکروارگانیسم ها (کوکسی یا باسیل) از آزمون های تشخیصی کواگولاز، کاتالاز، اپتوشین، اکسیداز، ایندول، اوره و غیره استفاده شد. پس از تشخیص هویت میکروارگانیسم ها، حساسیت باکتری ها تعیین شد.

جهت انجام تستLAL از کیت سیگما ساخت کشور امریکا با شماره D-210 استفاده شد. طبق دستورکار کیت، نمونه های خون بیماران به لوله های استریل حاوی هپارین اضافه شدند که قبلاً از مواد پیوژن و آندوتوکسین عاری شده بودند. پلاسمای خون بیماران با رعایت شرایط آسپتیک جدا و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد ذخیره می شد. پس از پایان نمونه برداری، نمونه های پلاسما از انجماد خارج شده و پس از تهیه استانداردهای آندوتوکسین با غلظت های ۰/۰۱۵ درصد تا۴۰۰۰ Eu در۱ میلی لیتر، آزمایش مطابق دستورکار کیت و پس از رقیق کردن نمونه ها انجام شد. با توجه به محدودیت کیت، آزمایش نیمه کمی انجام نشد و آزمایش فقط به صورت منفرد انجام و نتایج به صورت مثبت و منفی گزارش شد. چگونگی مطابقت دو روش کشت خون و آزمایشLAL با استفاده از ضریب کاپا مورد ارزیابی قرارگرفت.

✪ یافته ها :

www.SID.ir

Archive of SID

از۱۰۰بیمار مورد مطالعه ۶۵ نفر مؤنث و ۳۵ نفر مذکر بودند. ۷۰ نفردر گروه سنی کمتر از یک ماه و ۳۰ نفر در گروه سنی بالاتر از یک ماه قرار داشتند.

از ۱۰۰ نمونه کشت خون، ۱۶ مورد مثبت شد که عبارت بود از: ۳ مورد باکتری های گرم منفی (انتروباکتر، E.coli و کلبسیلا هر کدام یک مورد) و ۱۳ مورد باکتری های گرم مثبت (۵ مورد استافیلوکوک کوآگولاز منفی، ۴ مورد استافیلوکوک کوآگولاز مثبت، ۳ مورد استرپتوکوک بتاهمولتیک گروه A و ۱ مورد استرپتوکوک آلفاهمولتیک).

از ۱۰۰ آزمایش LAL که بر روی نمونه ها انجام شد، در۲۰ بیمار (۲۰ درصد) نتیجه مثبت بود.

در ۲۰ موردی که آزمایش LAL مثبت بود، ۳ مورد کشت خون مثبت وجود داشت که ۲ مورد آن گرم منفی (انتروباکتر و E.coli) و ۱ مورد آن گرم مثبت بود (استافیلوکوک کوآگولاز منفی). در ۸۰ موردی که آزمایش LAL منفی بود، ۱۳ مورد کشت خون مثبت وجود داشت که ۱ مورد آن گرم منفی (کلبسیلا) و ۱۲ مورد آن گرم مثبت بود (۴ مورد استافیلوکوک کوآگولاز منفی ، ۴ مورد استافیلوکوک کوآگولاز مثبت ، ۳ مورد استرپتوکوک بتاهمولتیک گروه A و ۱ مورد استرپتوکوک آلفاهمولتیک).

درنمونه هایی که آزمایشLAL مثبت بود، کشت مثبت دیگری بر روی نمونه هایی غیر از خون وجود داشت که عبارت بودند از : ۱ مورد هموفیلوس آنفلوآنزا از کشت CSF، ۲ مورد کلبسیلا از کشت ترشحات چشم و ۱ مورد کلبسیلا از کشت ادرار.

بیمارانی که آزمایش LAL آنها مثبت بود، در ۵۷ درصد موارد ESR بیش تر از ۱۰ میلی متر داشتند که ارزش اخباری مثبت آزمایش ۸۵ درصد بود.

✪ بحث و نتیجه گیری :

براساس نتایج این تحقیق ۱۶ مورد از ۱۰۰ بیمار مشکوک به سپتی سمی و شوک عفونی دارای کشت خون مثبت بودند که فقط سه مورد آنها باکتری های گرم منفی بودند. در حالی که در آزمایش LAL ۲۰ نمونه مثبت بود. با توجه به این که آزمایش LAL مخصوص تشخیص آندوتوکسین باکتری های گرم منفی است، لذا نتایج کشت خون و اندازه گیری آندوتوکسین با یکدیگر همسو نیستند (ضریب KAPPA کمتر از ۰/۲). عدم توافق میان آزمایش های LAL و کشت خون ممکن است به دلایل زیر باشد : اکثر بیمارانی که با نشانه های مشخص سپتی سمی یا شوک عفونی در بیمارستان بستری می شوند، در مراجعه قبلی به پزشکان با آنتی بیوتیک هایی درمان می شوند که از نظر نوع و مقدار دارو و طول درمان مناسب نیستند. دیگر این که سپتی سمی یا شوک عفونی ممکن است از باکتری های گرم منفی بی هوازی ناشی شده باشند که به محیط کشت اختصاصی نیاز دارند و در محیط های معمولی کشت خون رشد نمی کنند.[۱]

تحقیقات مختلف نشان داده اند که شایع ترین علت سپتی سمی باکتریایی در دهه های اخیر، باکتری های گرم منفی هستند.[۴و۵]

با توجه به علل مختلف و به خصوص عدم تکامل سیستم ایمنی، شیوع سپسیس با سن نسبت عکس دارد.[۴] نظر به این که خطر ناشی از آندوتوکسین باکتری های گرم منفی بیش تر از توکسین باکتری های گرم مثبت است، لذا بهره گیری از روش های تشخیصی سریع از اهمیت به سزایی برخوردار است.[۱]

در مطالعه ای که توسط مهیار در بیمارستان قدس قزوین انجام شد، از ۱۴۶ کشت خون مثبت، ۱۱ درصد باکتری های گرم منفی بودند که با توجه به شیوع این میکروارگانیسم ها در بیماری های عفونی کودکان، لزوم استفاده از محیط های کشت خون اختصاصی جهت میکروارگانیسم های گرم منفی به خصوص بی هوازی ها

www.SID.ir

Archive of SID

و همچنین آزمایش های تشخیصی سریع آشکارتر می شود.[۱و۳]

حساسیت آزمایش LAL در این تحقیق ۱۰۰ درصد و ویژگی آن ۹۶ درصد بود. در بررسی که توسط عمادی در دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شد ، حساسیت LAL با روش کمی ۱۰۰ درصد و با روش کیفی ۹۶ درصد و ویژگی آن ۹۷ درصد بود.[۲] در تحقیق دیگری که توسط حقی آشتیانی و همکاران در سال ۱۳۶۹ در دانشگاه تهران انجام شد ، حساسیت آزمایش LAL ۹۶ درصد گزارش شد.[۱] در کتب مرجع نیز حساسیت و ویژگی آزمایش LAL به ترتیب ۹۳ و ۹۹/۴ درصد گزارش شده که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.[۶]

در این تحقیق حساسیت کشت خون ۱۸ درصد و ویژگی آن۱۰۰ درصد بود، ولی در تحقیق دیگری که توسط حقی آشتیانی و همکاران انجام شد حساسیت کشت خون ۸۹ درصد و ویژگی آن ۴۷ درصد گزارش شد.[۱] در بررسی دیگری که در واشنگتن (امریکا) انجام شد، حساسیت کشت خون ۸۲ درصد و ویژگی ۹۶ درصد گزارش شد.[۹] حساسیت کشت خون مطالعه آخر با تحقیق حاضر اختلاف زیادی دارد که در جهت رفع این اختلاف موارد زیر پیشنهاد می شود :

– استفاده از محیط های کشت خون با کیفیت بهتر
– استفاده از محیط های کشت اختصاصی و استفاده از سیستم خودکار
– استفاده از پرسنل مجرب و دارای دانش لازم
– مراقبت در رعایت نوبت های کار تعیین شده برای کارکنان آزمایشگاه (در اکثر موارد نوبت های طولانی کار باعث کاهش بازدهی می شود)
– عدم استفاده خودسرانه بیماران از آنتی بیوتیک ها
– ایجاد امکانات تشخیصی جهت میکروب های بی هوازی اختیاری مانند بعضی از استرپتوکوک ها
– عدم تجویز آنتی بیوتیک سرپایی در مواردی که به بستری نیاز است.

با توجه به موارد ذکرشده، لزوم استفاده از آزمایش های تشخیصی سریع مانند LAL که هم بتواند نقایص موجود در کشت را جبران کند و هم در تشخیص سریع میکروارگانیسم ها کمک کند امری اجتناب ناپذیراست. بنابراین آزمایشLAL جهت تشخیص سپتی سمی های باکتری های گرم منفی و شوک عفونی بسیار باارزش است. توصیه می شود در بیماران مشکوک به سپتی سمی و شوک عفونی، کشت خون وآزمایشLAL به صورت توأم انجام شود. بدین ترتیب می توان در تشخیص و درمان سریع بیماران و در نتیجه کاهش میزان مرگ و میرها و هزینه های بیمارستانی قدم های موٴثری برداشت.[۱]

✿ سپاسگزاری :

بدین وسیله از شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین در تأمین هزینه طرح و همچنین آقایان دکتر حسن جهانی هاشمی و دکتر مجتبی معینی سپاسگزاری می شود.

✿ مراجع :

۱. حقی آشتیانی محمد تقی و همکاران. ارزش اندازه گیری آندوتوکسین در تشخیص بیماران مبتلا به سپتی سمی و مقایسه آن با کشت خون . مجله بیماری های کودکان ایران، بهمن ۱۳۷۹، سال چهارم، شماره۱، ۱۰۴–۸۵

۲. عمادی گنجین و همکاران. استفاده از روش های ایمونولوژیک در تشخیص سریع عوامل باکتریال در منتژیت های کودکان و نوزادان. پایان نامه پزشکی، تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، ۶۶–۱۳۶۵

۳. مهیارابوالفضل وهمکاران. بررسی موارد سپتی سمی های دوره نوزادی با کشت مثبت. پایان نامه پزشکی، قزوین، دانشگاه علوم پزشکی قزوین ، ۱۳۷۴

www.SID.ir

Archive of SID

4.Behrman R E et al. Nelson textbook of pediatrics. 16th ed, USA, Saunders, 2000, 747-50

5.Feigin R D et al. Textbook of pediatric infectious diseases. 4th ed, USA, Saunders, 1998, 807-17

6.Mandel G L etal. Principle and practice of infectious diseases. 5th Ed, USA, Churchill Livingstone, 2000, 806-7

7.Naqvi S H, Chundu K R, Friedman A D. Shock in children with gram negative bacillary sepsis and hemophilus influenza type B sepsis. Pediatr Infect Dis J 1986; 5: 512-5

8.Wong V K, Hitchcock W, Mason W H. Meningococcal infections in children : a review of 100 cases. Pediatr Infect Dis J 1989; 8: 224-7

9.WWW http: NEONATAL PED. Washington. EDU, NICU- WEB, Rule out. STM

www.SID.ir