بررسی مقایسه‌ای نتایج کشت خون به روش باکتک با روش معمول در تشخیص عفونتهای باکتریایی کودکان ۱ماه تا ۱۴ سال بستری در بخش عفونی کودکان بیمارستان رسول اکرم (ص) ۱۳۸۰-۱۳۷۹

دکتر ثمیله نوربخش، دکتر سهیلا ارض‌پیما، دکتر محمد بهروز مرادی، دکتر کوهپایه‌زاده

چکیده: عفونتها از شایعترین عوامل مرگ و میر کودکان در کشورهای در حال توسعه هستند. تشخیص سریع و به موقع نوع میکروارگانیسم در انتخاب نوع میکروب و مدت زمان بستری بیماران اهمیت دارد. تجربیات ما در بیمارستانهای متعدد آموزشی نشانگر منفی بودن کشت خون در اغلب بیماران می‌باشد. درمان آنتی‌بیوتیکی اغلب چشم بسته شروع شده و ادامه می‌یابد. روشهای کشت خون اتوماتیک طی سالیان اخیر کمک شایانی به تشخیص نوع عفونت کرده است. این مطالعه تحلیلی مقطعی بر روی کودکان ۱ ماه تا ۱۴ ساله بستری در بخش کودکان انجام گرفت. ۳۲۷ نمونه که بطور همزمان به دو روش، کشت داده شدند با استفاده از روشهای آماری در دو گروه مقایسه گردیدند. نتیجه آنکه روش بکتک در ۱۵۰ نمونه کشت خون مثبت در مقایسه با روش معمول تفاوت معنی‌دار داشت. اما تفاوت معنی‌داری در جدا کردن ارگانیسمهای گرم منفی و مثبت بین ۲ روش مشاهده نگردید. از نظر مثبت شدن کشت خون در بیمارانی که آنتی‌بیوتیک قبلی دریافت کرده بودند بین دو روش تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. متوسط زمان مثبت شدن کشت خون در روش باکتک کوتاهتر از روش معمول بود.

مقدمه

در تمام دنیا بیماریهای عفونی عمده‌ترین عامل مرگ و میر و مهمترین تهدید سلامت کودکان می‌باشند. در سال ۱۹۹۰ در جمعیت ۶۳۰ میلیونی کودکان زیر ۵ سال از ۵/۱۲میلیون مرگ و میر ۸ میلیون آن ناشی از بیماریهای عفونی بوده است. بیشتر این مرگ و میرها مربوط به کشورهای در حال توسعه است (۱). در صورت بروز سپتی سمی تشخیص سریع و درست میکروارگانیسم ایجاد کننده جان بیمار را نجات خواهد داد. چه بسا بیمارانی که در اثر حساس نبودن ارگانیسم به آنتی‌بیوتیک یا تأخیر در شروع آنتی‌بیوتیک جان خود را از دست می‌دهند. (۲و۳و۴). سرعت تشخیص نوع عفونت به شروع درمان و نوع درمان اختصاصی کمک می‌کند. از طرف دیگر منفی بودن کشت خون با روش مطمئن می‌تواند مدت بستری کودکان را کاهش داده و در هزینه‌های بستری بیماران صرفه‌جویی نماید. با توجه به تجربیات ما در بیمارستانهای آموزشی متعدد که علیرغم ظن بالینی قوی به عفونت و شروع آنتی‌بیوتیک برای بیمار اغلب موارد کشتهای خون منفی گزارش می‌شود بنظر می‌رسد اشکالات تکنیکی و یا شرایط نامناسب نگهداری میکروب و ... در منفی بودن کشت خون مؤثر باشد. روشهای تمام اتوماتیک بکتک از نظر سرعت و حساسیت تشخیصی به روش معمول برتری دارد (۱۰) هدف از این مطالعه مقایسه کشت خون با استفاده از روش اتوماتیک باکتک با روشهای معمولی کشت خون قبلی در کشور است. نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند ارزشمندی کشت به روش اتوماتیک را نشان داده و ارجحیت آن را به روش معمول نشان دهد. این مطالعه مشاهده‌ای تحلیلی مقطعی بر روی کودکان ۱-۱۴ماه بستری در بخش کودکان انجام گرفت. کشت خون به دو روش بطور همزمان از هر بیمار انجام شده و نتایج حاصل از دو روش بر حسب زمان مثبت شدن و نوع میکروارگانیسم در هر دو گروه مقایسه می‌شوند. در صورت مثبت بودن نتایج می‌توان هزینه این روش را با روش معمولی مقایسه کرده و در صورت سرعت در پاسخ‌دهی و کوتاه نمودن زمان بستری بیمار در هزینه‌های درمانی بیماران صرفه‌جویی نمود.

روش اجرای پژوهش

۱- تعریف جامعه پژوهش:

کودکان یک ماهه تا ۱۴ سال بستری شده در بخش کودکان مجتمع آموزشی درمانی حضرت رسول طی ۶ ماه (۷۹/۹/۱ تا ۸۰/۳/۳۱).

۲- روش نمونه‌گیری:

الف) نمونه‌گیری به روش آسان (convenience) صورت گرفته است.

ب) معیارهای انتخاب نمونه؛ کلیه کودکان بستری شده در بخش عفونی کودکان در محدوده سنی یک ماه تا ۱۴ سال که بنابه تشخیص پزشک نیاز به کشت خون داشته‌اند.

۳- نوع پژوهش و روش انجام کار:

نوع پژوهش: مشاهده‌ای، تحلیلی و مقطعی می‌باشد. Observational/Aanalytic/Cross-sectional

روش انجام کار: در این مطالعه نتایج حاصل از دو روش کشت خون معمولی و Bactec با هم مقایسه شده‌اند. کلیه کشت خونهای انجام شده در بخش کودکان بیمارستان حضرت رسول از کودکان یک ماهه تا ۱۴ سال از تاریخ ۷۹/۹/۱ تا ۸۰/۳/۳۱ که بنا به تشخیص و صلاحدید پزشک بخش انجام شده در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته‌اند.

هنگام نمونه‌گیری از هر بیمار مشخصات بیمار، تشخیص اولیه و مصرف یا عدم مصرف قبلی آنتی‌بیوتیک و زمان تلقیح خون به محیط کشت ثبت می‌گردید.

نحوه خونگیری بدین صورت بود که پس از پاک کردن پوست محل خونگیری با ایزوپروپیل الکل ۷۰٪ و سپس پویدون ایودین ۱٪ و پس از خشک شدن محل خونگیری، خون توسط سرنگ و سر سوزن از رگ محیطی گرفته شده و پس از پاک کردن سر شیشه‌های محیط کشت با الکل و تعویض سر سوزن خون به میزان مساوی ۳ تا ۵ سی‌سی همزمان در دو محیط Bactec ped plus/F و معمولی Brain-Heart infusion تلقیح می‌گردید. نمونه Bactec در جایگاه مخصوص خود در دستگاه قرار می‌گرفت در این سیستم محیط کشت دائماً در حال چرخش بوده از نظر تغییر میزان Co2 و تغییر PH محیط کشت هر ۱۰ دقیقه توسط فلورسانس کنترل می‌گردید. نمونه‌ها بمدت ۵ روز کنترل می‌شدند در طی این ۵ روز هر زمان نمونه مثبت می‌گردید ضمن ثبت زمان آن، از دستگاه خارج شده و جهت انجام رنگ‌آمیزی گرم و تهیه subculture به آزمایشگاه میکروبشناسی ارسال می‌گردید. نمونه کشت BHI نیز از همان ابتدا به آزمایشگاه میکروب‌شناسی ارسال شده و به مدت ۷ روز بصورت روزانه از نظر بروز کدورت، همولیز، تشکیل کلنی بررسی می‌گردید و از آن Subculture تهیه می‌شد. مشخصات میکروارگانیسم و زمان مثبت شدن نمونه در هر دو روش، جداگانه توسط مسئول آزمایشگاه میکروب‌شناسی ثبت و به بخش ارسال می‌گردید. هر نتیجه مثبت با تاریخچه، علائم کلینیکی بیمار، وجود یا عدم وجود عامل زمینه‌ای مانند نقص ایمنی یا دستکاری پزشکی و ... مطابقت داده شده و در صورت همخوانی، با ارزش (significant) و در صورتی که همخوانی نداشت بعنوان Contamination در نظر گرفته می‌شد. مواردی هم که علیرغم آلارم دستگاه یا تغییر ظاهر محیط کشت در روش معمولی Subculture منفی می‌شد بعنوان مثبت کاذب در نظر گرفته می‌شد.

ابزار بکارگیری:

اطلاعات بدست آمده در فرم جمع‌آوری اطلاعات ثبت می‌گردید.

۵- روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

پس از جمع‌آوری اطلاعات، داده‌ها وارد نرم‌افزار SPSSشده (Data-Enter) و با استفاده از دستورات Frequency و Descriptive برای متغیرهای کیفی از درصد فراوانی و برای متغیرهای کمی از میانگین و انحراف معیار استفاده شد. همچنین از دستور Crass0Tabبرای تعیین ارتباط (متغیر کیفی و رسم جداول دوبعدی) استفاده گردید.

یافته‌های پژوهش

پس از بررسی داده‌های آماری، استخراج شده از برنامه SPSS نتایج زیر حاصل گردید:

در این مطالعه از ۳۲۷ بیمار، کشت خون به دو روش Bactec و معمولی بعمل آمد. با استفاده از دو روش در مجموع ۴۵ نمونه کشت مثبت شدند. بر اساس تاریخچه و شواهد بالینی از این تعداد ۲۸ مورد (٪۶۲) Clinically significant و ۱۷ مورد (٪۳۸) Contamination در نظر گرفته شدند. از ۲۸ نمونه با ارزش ۲۲ نمونه (٪۷۸) فقط به روش Bactec و ۲ نمونه (٪۷) فقط معمولی و ۴ مورد (٪۱۴) توسط هر دو روش مثبت بودند. فراوانی موارد کشت خون مثبت و منفی در دو روش کشت خون Bactec و معمولی در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

۱- فراوانی موارد مثبت کشت خون در روش Bactec در جدول شماره ۳ و فراوانی موارد مثبت کشت خون در روش معمولی در جدول شماره ۴ ذکر گردیده است.

و با (Pvalue=0.002) حاصل از آزمون chi-squra بین تعداد کشت مثبت significant حاصل از دو روش تفاوت معنی‌داری وجود داشت، همچنین بین تعداد موارد کشت مثبتی که contaminated در نظر گرفته شدند. در دو روش تفاوت معنی‌داری وجود دارد($P\ value < 0.05$)

۲- فراوانی موارد مثبت کشت خون به تفکیک نوع میکروارگانیسم در دو روش کشت Bactec و معمولی در جدول شماره ۲ نمایش داده شده است.

فراوانی موارد مثبت کشت خون به تفکیک نوع میکروارگانیسم (گرم مثبت یا گرم منفی) در روش Bactec در جدول شماره

۵ و فراوانی موارد مثبت کشت خون به تفکیک نوع میکروارگانیسم (گرم مثبت یا منفی) در روش معمولی در جدول شماره ۶ نمایش داده شده است. بر اساس آزمون chi-squra ارتباط معنی‌داری بین نوع میکروارگانیسم بدست آمده (بر اساس رنگ‌آمیزی گرم) و روش کشت خون وجود نداشت.

۳- فراوانی موارد مثبت کشت خون بر حسب مصرف قبلی آنتی‌بیوتیک در دو روش Bactec و معمول در جدول شماره (۷و۸) نمایش داده شده است. بر اساس آزمون chi-squre ارتباط معنی‌داری بین مصرف آنتی‌بیوتیک و روش کشت خون وجود نداشت.

۴- ارتباط بین زمان مثبت شدن خون با روش کشت معمولی و Bactec در جدول شماره ۹ بیان شده است. میانگین لازم جهت مثبت شدن کشت در روش Bactec ۱/۲۹ روز و در روش معمولی ۴/۱۸ روز بوده و دامنه تغییرات در روش Bactec از ۱ تا ۳ روز و در روش معمولی ۲ تا ۷ روز بوده است.

با مقایسه دو روش از نظر زمان سپری شده تا مثبت شدن کشت خون با آزمون T-test مستقل (با واریانهای مجزا) تفاوت معنی‌داری بین دو روش وجود دارد ($P<0.01$) و نتایج دو روش Bactec ۲/۹ روز سریعتر از روش معمولی حاصل می‌گردد.

بحث و تفسیر نتایج

بر اساس نتایج بدست آمده در این مطالعه توانائی شناسایی میکروارگانیسم در روش کشت خون Bactec به روش معمولی برتری دارد ($P=0.02$). این نتیجه با نتایجی که توسط Sorlin P و همکاران (۲۰۰۰) و Krisher KK و همکاران (۱۹۹۳) و گروه انگل و قارچشناسی دانشگاه تهران (۱۹۷۹) گزارش گردیده سازگار است. (۱۲و۱۳و۱۴) اما بر خلاف نتیجه‌ای است که در تایلند توسط Choke phaibulkt و همکارانش ۱۹۹۹ بدست آمده است (۱۱) در مطالعه فوق توانائی شناسایی میکروارگانیسم در دو روش کشت خون برابر بوده وتمام موارد Contamination مربوط به کشت معمولی بوده است (۱۱).

در مطالعه ما موارد contamination در روش Bactec ۳۶/۶٪ و در روش معمولی ۴۵/۵٪ بوده است که علیرغم اینکه تعداد موارد آلودگی در روش Bactec از تعداد موارد آلودگی در روش معمولی کمتر است اما این میزان ۳۶/۶٪ در مطالعات مشابه غیرمعمول است که احتمالاً در نتیجه عدم رعایت نکات استریل سازی هنگام گرفتن نمونه و عدم استفاده از ست مخصوص خونگیری در روش Bactec می‌باشد. این مسئله می‌تواند با آلوده نمودن محیط کشت از رشد ارگانیسم اصلی ایجاد کننده علائم بیماری جلوگیری نماید.

در این مطالعه زمان لازم جهت مثبت شدن نمونه کشت خون در روش Bactec کوتاهتر از زمان لازم جهت مثبت شدن نمونه کشت خون در روش معمولی است ($P < 0.001$).

تفاوت قابل ملاحظه‌ای در قدرت شناسائی بیشتر میکروارگانیسم در گروهی که قبلاً آنتی‌بیوتیک مصرف نموده‌اند در دو روش کشت خون وجود نداشت که این می‌تواند بدلیل مصرف آنتی‌بیوتیک‌هایی باشد که در رشد میکروارگانیسم تأثیری نداشته‌اند و رزینهای موجود در محیط کشت بلااستفاده بوده‌اند.

بطور کلی می‌توان نتیجه گرفت، که روش کشت خون اتوماتیک Bactec حساسیت بیشتری جهت شناسایی میکروارگانیسم داشته و به زمان کمتری جهت مثبت شدن کشت خون احتیاج دارد.

در انتها چند نمونه از اثربخشی روش اتوماتیک Bactec در سرنوشت بیماران ذکر می‌گردد.

مورد اول:

دختری ۲/۵ ساله که با علائم مننژیت در بخش بستری گردید و طی کمتر از ۴۸ ساعت ارگانیسم شناسایی و نتیجه کشت خون و CSF مننگوکوک گزارش گردید. جواب کشت در روش معمولی برای هر دو نمونه منفی بود این بیمار فاقد علائم پوستی پتشی بود و اطرافیان وی بموقع پروفیلاکسی دریافت نمودند.

مورد دوم:

دختری یک ساله که با سابقه ۵ روزه تب و بی‌قراری در بخش بستری گردید و طی کمتر از ۷۲ ساعت نتیجه کشت خون و CSF هموفیلوس آنفلوآنزا گزارش گردید. جواب کشت خون و CSF به روش معمولی منفی بود.

مورد سوم:

پسر ۱۲ ساله مبتلا به All با شکایت دوهفته‌ای درد و تورم ساق پای راست در بخش بستری گردید طی ۷۲ ساعت نمونه کشت خون مثبت و استاف اورئوس گزارش گردید. نمونه کشت خون معمولی منفی بود.

مورد چهارم:

دو مورد بیمار با شکایت تب و بی‌حالی در بخش بستری شدند که نمونه کشت خون در هر دو روش Bactec و معمولی سالمونلا گزارش گردید اما در یکی کشت به روش Bactec ظرف ۲۴ ساعت و در روش معمولی ظرف ۴ روز مثبت شد در

مورد دیگر به روش Bactec ۴۸ ساعت و در روش معمولی ۵ روز طول کشید.

مورد پنجم:

با استفاده از این تکنولوژی سه مورد مایکوباکتریوم توبرکلوزیس شناسائی شد که ۲ نمونه آن از یک خون و یک نمونه از پریتوئن بود.

پیشنهادات

با توجه به کارآیی‌های موجود در سیستم اتوماتیک Bactec (حساسیت بیشتر، زمان کمتر، محیطهای کشت متنوع) توصیه می‌شود حداقل در مراکز دانشگاهی و بیمارستانهای مرجع این سیستم جایگزین روش مرسوم گردد. ولی باید متذکر گردید که استفاده از این سیستم مستلزم رعایت دقیق نکات استریل‌سازی هنگام خونگیری و آشنائی کامل با محیطهای کشت متفاوت آن است.

علیرغم اینکه یکی از مزایای این سیستم آلودگی کمتر نمونه‌هاست متأسفانه در این مطالعه می‌بینیم که مواد Contamination ۳۶٪ بوده است. جهت رفع این مشکل توصیه می‌شود:

۱- از ست خونگیری مخصوص محیطهای کشت استفاده شود.

۲- نکاتی که در مقدمه این مطالعه درباره نحوه خونگیری و تلقیح آن به محیط کشت ذکر گردیده کاملاً رعایت شود.

REFERENCES:

1. Campbell, A,G , Mclnstosh, Neil.. " For far Text book of Pediatrics" ,U.SA, WB.,saunders company, 1313-15, 5th Ed. 1998.
2. Reimer et al." Statistical methods employed in the study of blood culture media" .1997, Clin. Microbial Rev. 10.. 444
3. Holliman. " Controlled clinical evaluation of blood culturs system for detection of blood stream infection ". 1986, 1. Hosp. infect. 7.. 185
4. Weinstein et al ." Controlled evaluation of Bactec plus 26 and Rocho septio- chok aerobic blood culture". 1983, Rev. infect. Dis. 5 : 35
5. Weinstein et al. The clinical significant of positive blood cultures: A comperehenesive analysis of 500 episodes of bacteraemia in adults. I. laboratory and epidemiologic observations". 1991" J. Clin Microbiol 29: 879
6. Wallis et at " Rapid isolation of bacteria from septicemic patient by use of an antimicrobial agent removal device" . J. clin . Microbial. 1980, 11 : 462, 64
7. Applebaum, P.C. et al." Enhanced detection of bacteria with a new Bactec resin blood culture medium". J. clin Microbial 1983, 17": 48-51
8. horsburg C.R" Myco bacterium Avium complex infection in the acquired immunodeficiency syndrome" . New England. J Med 1991, 324: 1332-38.
9. Henry John B." Clinical Diagnosis and managment by laboratory methods" 19th ed . 1998 - 6 : 1312- 15
10. Nolte et al :" Multi center clinical evaluation of a continuous monitoring blood culture system using fluoresent - sensor technology" . J. clin . Microbiol 1993 , 31: 552.
11. chokephalibulkit et al : " Comparison of Bactec automated blood culture system and conventional system in hospitalyzed pediatric patient" .J Med Assoc. Thai. 1999 Oct, 82: 1011 - 16.
12. Sorlin. P et al:" Comparison of resin- containing Bactec plus Aerobic of medium with conventional methods for culture of normally sterile body fluids ". J. Med J.Microbiol 2000 Sep 49(9) :787-91.
13. Krisher KK et al : " Comparison of the Bactec Alert pediatric blood culture .system with conventional culture". J. Clin. Microbiol, 1993 *Apr* 31 :793-7
۱۴- زینی، فریده. اکبری، نجیبه. بررسیهای عفونتهای قارچی در خون و مایعات استریل بدن به دو روش کشت. نهمین کنگره بیماریهای عفونی ایران، دی ماه ۱۳۷۹.

روش کشت خون	Bactec	معمولی
مثبت	۴۱	۱۱
منفی	۲۸۶	۳۱۶
جمع	۳۲۷	۳۲۷

جدول شماره ۱- فراوانی موارد کشت خون مثبت و منفی در دو روش کشت خون Bactec و معمولی (از این تعداد مورد در هر دو روش مثبت بوده‌اند

ارگانیسم جدا شده	فقط Bactec	فقط معمولی	هر دو روش
گرم مثبت			
استافیلوکوک CONS	۱۴	۲	۳
استاف اورئوس	۳		
استرپتوکک پنومونیا	۱	۱	
استرپتوکوک ویریدنس		۱	
استرپتوکوک پایوژن	۱		
استرپتوکوک گروه D	۱		
پپتواسترپتوکوک	۱		
کورینه باکتری دیفتریه	۱		
باسیل سوبتیلیس	۳	۱	
اکتینومایز	۱		
گرم منفی			
مننگوکوک	۱		
هموفیلوس	۱		
سالمونلا			۲
کلبسیلا پنومونی	۱	۱	
E.Coli	۴	۱	
سایر موارد			
مایکوباکتریوم توبرکلوزیس	۲		

جدول شماره ۲- فراوانی موارد مثبت کشت خون به تفکیک نوع میکروارگانیسم در دو روش کشت خون Bactec و معمولی

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	26	57.8	63.4	63.4
Contamination	15	33.3	36.6	100.0
Total	41	91.1	100.0	
Missing System	4	8.9		
Total	45	100.0		

جدول شماره ۳- فراوانی موارد مثبت کشت خون در روش Bactec

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid		6	13.3	54.5	54.5
	Contamination	5	11.1	45.5	100.0
	Total	11	24.4	100.0	
Missing	System	34	75.6		
Total		45	100.0		

جدول شماره ۴- فراوانی موارد مثبت خون در روش معمولی

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	gram positive	29	32.2		
	gram negative	9	10.0		
	others	3	3.3		
	Total	41	45.6		
Missing	System	49	54.4		
Total		90	100.0		

جدول شماره ۵- فراوانی موارد مثبت کشت خون به تفکیک نوع میکروارگانیسم (گرم مثبت یا گرم منفی) در روش Bactec

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	gram positive	8	8.9	72.7	72.7
	gram negative	3	3.3	27.3	100.0
	Total	11	12.2	100.0	
Missing	System	79	87.8		
Total		90	100.0		

جدول شماره ۶- فراوانی موارد مثبت کشت خون به تفکیک نوع میکروارگانیسم (گرم مثبت یا منفی) در روش معمولی

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	positive	22	84.6	84.6	84.6
	negative	4	15.4	15.4	100.0
	Total	26	100.0	100.0	

جدول شماره ۷- فراوانی موارد مثبت کشت خون بر حسب مصرف قبلی آنتی‌بیوتیک در روش Bactec

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	positive	3	60.0	60.0	60.0
	negative	2	40.0	40.0	100.0
	Total	5	100.0	100.0	

جدول شماره ۸- فراوانی موارد مثبت کشت خون بر حسب مصرف قبلی آنتی‌بیوتیک در روش معمولی

		TIMEB	TIMCE
N	Valid	41	11
	Missing	4	34
Mean		1.2927	4.1818
Median		1.0000	4.0000
Mode		1.00	3.00
Std.Deviation		1.5587	1.6011
	Range	2.00	5.00
Minimum		1.00	2.00
Maximum		3.00	7.00

جدول شماره ۹- شاخصهای آماری مربوط به زمان مثبت شدن کشت خون در دو روش Bactec و معمولی