MED. DOŚW. MIKROBIOL., 2009, 61: 153 - 158

Małgorzata Brauncajs[1], Maria Olesiejuk[2], Zbigniew Krzemiński[1]

DROBNOUSTROJE IZOLOWANE OD ZDROWYCH NOWORODKÓW W PIERWSZEJ I TRZECIEJ DOBIE ŻYCIA

[1]Zakład Mikrobiologii Lekarskiej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. *Z. Krzemiński*
[2]Oddział Neonatologii Szpitala im. H. Jordana w Łodzi
Kierownik: dr n. med. *M. Olesiejuk*

Od zdrowych noworodków pobierano w pierwszych dniach życia do badania bakteriologicznego wymaz ze skóry, przedsionka nosa i kał. Stwierdzono, że noworodki kolonizowane są zarówno przez fizjologiczną florę bakteryjną, jak i przez drobnoustroje patogenne, które później mogą być czynnikiem etiologicznym zakażenia szpitalnego.

Bakterie kolonizujące noworodki stanowią potencjalną florę patogenną, która może wywołać określoną postać infekcji u tych dzieci. To, jaka flora bakteryjna będzie kolonizowała noworodki, zależy od wielu różnych czynników, jak: stanu zdrowia matki, sytuacji sanitarno-epidemiologicznej oddziału noworodkowego, systemu organizacyjnego i wyposażenia tego oddziału, liczebności personelu medycznego i stosowania odpowiedniej profilaktyki. Do wewnątrzmacicznego zakażenia płodu dochodzi drogą wstępującą z pochwy przez błony płodowe i płyn owodniowy, lub drogą krwi przez łożysko. Czynnikami etiologicznymi takich infekcji mogą być m.in. paciorkowce, gronkowce, pałeczki okrężnicy (3, 20). Zakażenia związane z porodem wywoływane są natomiast przez florę bakteryjną dróg rodnych matki, a zwłaszcza przez paciorkowce z grupy B (4, 8, 9). Źródłem zakażeń w okresie poporodowym może być chora matka, inny noworodek lub personel medyczny. Dzieci przebywające po urodzeniu pod opieką matek, kolonizowane są przez ich florę bakteryjną, zazwyczaj fizjologiczną. Jest to forma naturalnej profilaktyki przeciw zakażeniom wywoływanym przez drobnoustroje patogenne, oporne na antybiotyki.

Celem pracy było ustalenie, w jakim czasie i przez jakie drobnoustroje dochodzi do kolonizowania noworodków od chwili porodu.

MATERIAŁ I METODY

Od 40 zdrowych noworodków z Oddziału Neonatologii szpitala im. H. Jordana w Łodzi bezpośrednio po urodzeniu pobierano do badania bakteriologicznego do probówki z podłożem Stuarta wymaz ze skóry i wymaz z przedsionka nosa, natomiast w trzeciej dobie życia,

oprócz wymazu ze skóry i nosa, również kał. Bakterie dające się hodować w warunkach tlenowych izolowano na podłożu Columbia II Agar z dodatkiem 5% v/v odwłóknionej krwi baraniej, a dające się hodować w warunkach beztlenowych na podłożu Scheadlera. Gronkowce izolowano na podłożu Staphylococcus Medium No. 110, Gram-ujemne pałeczki jelitowe na podłożu MacConkeya. Enterokoki izolowano na agarze z żółcią i eskuliną - Coccosel Agar. Dla pałeczek z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* zastosowano podłoże Rogosy. Wyhodowane drobnoustroje identyfikowano testami biochemicznymi API (BioMérieux). Zastosowano odpowiednio - API STAPH dla gronkowców, API STREP dla paciorkowców i API 20A dla bakterii beztlenowych. Pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* identyfikowano przy użyciu zestawu API 20E. Wrażliwość gronkowców na metycylinę i cefoksytynę określano metodą dyfuzyjno-krążkową i metodą przeglądową wg CLSI, natomiast wytwarzanie β-laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym metodą dwóch krążków.

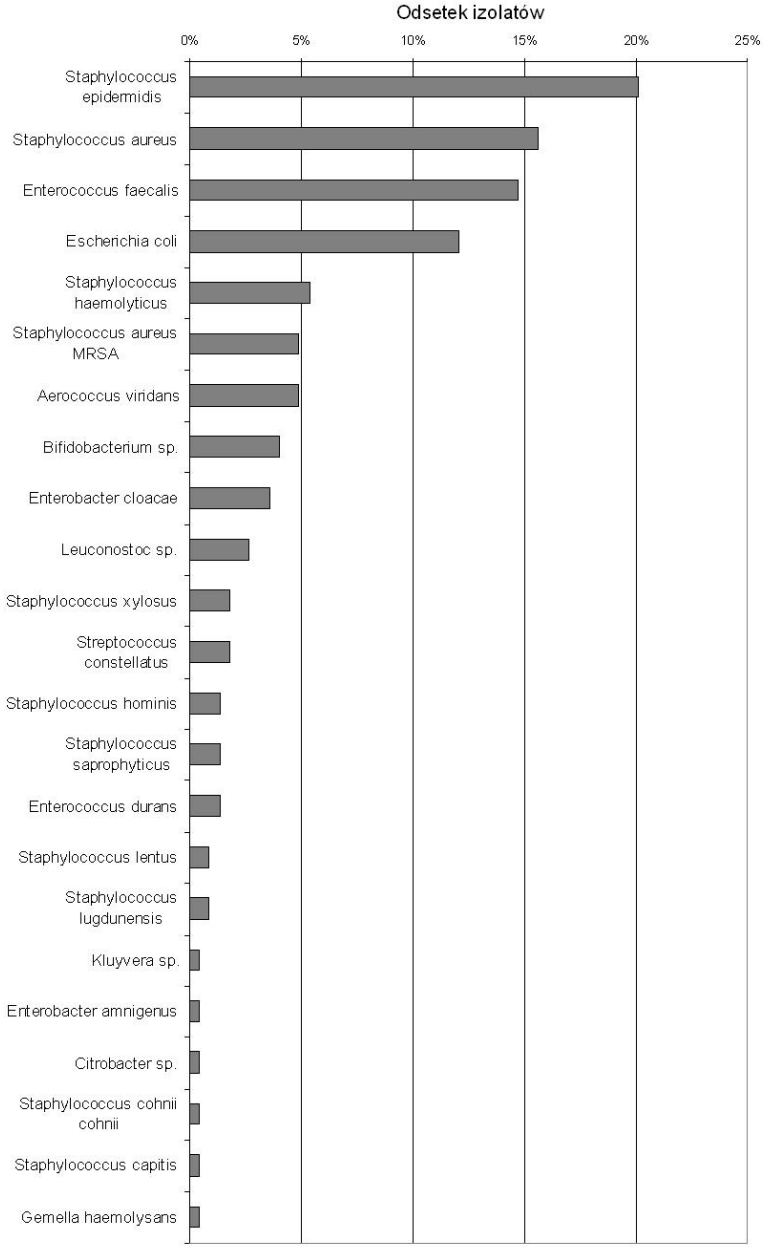
WYNIKI

Od 40 zdrowych noworodków (20 chłopców i 20 dziewczynek) pobrano 200 próbek materiału klinicznego uzyskując 119 dodatnich posiewów. Szczegółowe dane przedstawiono w tabeli I. Łącznie od tych noworodków wyhodowano 186 (83%) izolatów bakterii Gram-

Tabela I. Materiały kliniczne opracowane bakteriologicznie pochodzące od zdrowych noworodków z Oddziału Neonatologii szpitala im. H. Jordana

Materiał kliniczny	Ogólna liczba i odsetek posiewów		Liczba i odsetek posiewów z wynikiem dodatnim	
	N	Odsetek	N	Odsetek
Skóra - I doba życia	40	20%	4	3,4%
Przedsionek nosa - I doba życia	40	20%	4	3,4%
Skóra - III doba życia	40	20%	40	33,6%
Przedsionek nosa - III doba życia	40	20%	31	26%
Kał - III doba życia	40	20%	40	33,6%
Ogółem	200	100%	119	59,5%

dodatnich i 38 (17%) izolatów, należących do rodziny *Enterobacteriaceae.* Bakterie Gram-dodatnie reprezentowane były głównie przez gronkowce: *S. epidermidis* - 45 (20,1%), *S. aureus* - 46 (20,5%), i *S. haemolyticus* - 12 (5,4%) izolatów,. Liczną grupę stanowiły także enterokoki – 36 (16,1%) i *Aërococcus viridans* - 11 (4,9%) izolatów. Wśród pałeczek Gram-ujemnych dominowały *Escherichia coli* – 27 (12,1%) i *Enterobacter cloacae* - 8 (3,6%) izolatów (Ryc.1). W pierwszej dobie życia wśród izolatów ze skóry od zdrowych noworodków stwierdzono obecność gronkowca złocistego metycylinoopornego oraz *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis* i *Enterococcus faecalis* (po 25% izolatów). Z przedsionka nosa w pierwszej dobie życia wyhodowano *Enterobacter amnigenus*, gronkowca złocistego metycylinoopornego, *S. haemolyticus* i *Enterococcus faecalis* (po 25% izolatów). Na skórze w trzeciej dobie życia najliczniej występowały bakterie Gram-dodatnie, głównie *S. epidermidis* – 15 (23,1%), *S. aureus* – 22 (33,9%) i *Enterococcus faecalis* – 6 (9,2%) izolatów. Podobnie w przedsionku



Ryc. 1. Drobnoustroje izolowane od zdrowych noworodków – ogółem.

nosa; *S. epidermidis* – 23 (46,9%), *S. aureus* – 8 (16,3%) oraz *Escherichia coli* – 2 (4,1%) izolaty. Z kału najczęściej izolowano Gram-ujemne pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae.* Rodzinę tą głównie reprezentowały szczepy: *Escherichia coli* – 25 (24,5%) i *Enterobacter*

cloacae – 8 (7,8%) izolatów. Z bakterii Gram-dodatnich najczęściej izolowano gronkowca złocistego – 14 (13,7%) i *Enterococcus faecalis* – 24 (23,5%) izolatów. Pałeczki *Bifidobacterium sp.* wyizolowano w 9 przypadkach (8,8%). W sumie, od zdrowych noworodków wyizolowano 11 izolatów gronkowca złocistego opornych na metycylinę (4,9%) - po jednym ze skóry i z przedsionka nosa w pierwszej dobie życia, osiem ze skóry w trzeciej dobie życia i jeden z przedsionka nosa także w trzeciej dobie życia.

DYSKUSJA

Rodzaj drobnoustrojów, które są etiologicznymi czynnikami zakażeń noworodków zmienia się w czasie, uzależniony jest od regionu, szpitala, a nawet oddziału (7, 19). Obecnie główną rolę w zakażeniach noworodków odgrywają gronkowce koagulazo-ujemne (7, 10, 11, 19, 21). Przeprowadzona przez nas analiza profilu bakteriologicznego zdrowych noworodków, wykazała dominującą rolę bakterii Gram-dodatnich, głównie gronkowców. *Kędzierska* i inni (7) ustalili, iż rezerwuarem i potencjalną drogą transmisji gronkowców jest niejałowy sprzęt medyczny, przedmioty z otoczenia noworodków służące do ich pielęgnacji oraz personel. Odnotowali oni wysoką częstość izolacji szczepów metycylinooopornych; spośród 89 wyosobnionych szczepów gronkowców koagulazo-ujemnych 55% zidentyfikowano jako oporne na metycylinę. Izolowano je najczęściej z inkubatorów i respiratorów, a także z rąk personelu. *Gad-Karpierz* i inni (4) wykonywali bezpośrednio po porodzie posiewy ze skóry z okolicy pachwiny, z zewnętrznego przewodu słuchowego i odbytu noworodka. Najczęściej izolowali pałeczki *Escherichia coli* oraz bakterie Gram-dodatnie. Podobne wyniki uzyskano w tych badaniach pobierając wymazy ze skóry w okolicy zgięcia łokciowego, z przedsionka nosa i kału od noworodków w pierwszej i trzeciej dobie życia. Każdy oddział noworodkowy ma własną florę endemiczną; ogromny problem stanowią szczepy wielooporne, tj. metycylinooporny gronkowiec złocisty oraz pałeczki Gram-ujemne wytwarzające beta-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (1, 2). Gronkowiec złocisty jest drobnoustrojem zasiedlającym często skórę i błony śluzowe nosa zdrowych osób (13). Jednocześnie należy do najczęstszych etiologicznych czynników zakażeń szpitalnych i pozaszpitalnych. Głównie w środowisku szpitalnym dominują MRSA. Zbyt powszechne stosowanie wankomycyny do leczenia zakażeń wywoływanych przez MRSA doprowadziło do wyindukowania u ziarenkowców oporności na ten lek (12, 14). U noworodków *Staphylococcus aureus* może wywoływać zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, bakteriemię, zakażenia układu moczowego, zapalenie płuc, posocznicę, zapalenie spojówek i zespół skóry oparzonej (16). *Silva* i inni (17) wśród obserwowanych infekcji wywołanych przez gronkowca złocistego większość (69%) zakwalifikowali jako nieinwazyjne, np. zapalenie skóry i zapalenie spojówek. W przypadku infekcji inwazyjnych (31%) stwierdzili, że 10% posocznic wywoływanych jest przez *S. aureus* opornego na metycylinę. Podsumowując, należy stwierdzić, iż informacje dotyczące rodzaju bakterii kolonizujących noworodka, jak też czasu wystąpienia kolonizacji w okresie poporodowym mogłyby być wykorzystane do działań profilaktycznych. Bakterie te bowiem znajdują się w środowisku oddziału noworodkowego i niezależnie od źródła pochodzenia kolonizacja nimi stanowi potencjalny czynnik rozwoju poważnego zakażenia, które może być przenoszone na innych pacjentów. Nieodzownym elementem postępowania w ograniczaniu szpitalnych zakażeń szczepami antybiotykoopornymi powinien być ciągły nadzór nad stosowanymi procedurami oraz

monitorowanie oporności i jej rozprzestrzeniania się w danym środowisku szpitalnym (5, 6, 15, 18).

Uzyskane w niniejszej pracy wyniki pozwalają stwierdzić, że zdrowe noworodki już w pierwszej dobie życia kolonizowane są zarówno przez fizjologiczną florę bakteryjną, jak i przez drobnoustroje patogenne, które mogą być później etiologicznym czynnikiem zakażenia szpitalnego.

M. Brauncajs, M. Olesiejuk, Z. Krzemiński

MICROORGANISMS ISOLATED FROM HEALTHY NEWBORNS IN THE FIRST AND THIRD TWENTY-FOUR HOURS

SUMMARY

From forty healthy newborns of The Neonatology Ward of H.Jordan Hospital in Lodz, skin and nasal septum-swabs have been sampled immediately after the delivery. Whereas, in the third twenty-four hours of their lives, apart from skin and nasal septum-swabs, it has been sampled also faeces-swabs. The aim of the examination was to establish time of bacterial colonization and kinds of microorganisms responsible for that colonization after children's delivery. Two hundred clinic samples have been entirely taken to microbiological examination. It has been received 119 positive inoculations; 186 Gram-positive bacteria strains as well as 38 strains belonging to *Enterobacteriaceae* family have been cultured from healthy newborns. Eleven strains of *methicillin resistant Staphylococcus aureus* have been isolated – each from the skin and the nasal septum, during the first twenty-four hours, eight strains from skin in the third twenty-four hours as well as one from the nasal septum in the third twenty four hours. The results gathered on the basis of the study, allow to conclude that healthy newborns as early as in their first twenty four hours are influenced both by the physiological bacterial flora and pathogenic microorganism that can be an ethiological factor of hospital infection.

PIŚMIENNICTWO

1. *Behari P, Englund J, Alcasid G* i inni. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to preterm infants through breast milk. Infect Control Hosp Epidemiol 2004; 25: 778-80.
2. *Calil R, Marba ST, Nowakonski A* i inni. Reduction in colonization and nosocomial infection by multiresistant bacteria in a neonatal unit after institution of educational measures and restriction in the use of cephalosporins. Am J Infect Control 2001; 29: 133-8.
3 *Chodakowska E, Dąbrowska H, Łojko M*. Analiza bakteryjnych zakażeń wewnątrzmacicznych u noworodków hospitalizowanych na Oddziale Noworodków i Intensywnej Terapii Neonatologicznej Wojewódzkiego Szpitala Zespolonego w Toruniu w roku 2000. Post Neonatol, Supl. 2, 2002; 56-9.
4. *Gad-Karpierz B, Helwich E*. Analiza badań bakteriologicznych populacji noworodków w tradycyjnym systemie organizacji oddziału (system kohorty). Ped Pol 1991; 66: 5-6.
5. *Gregersen N, van Nierop W, von Gottberg A* i inni. *Klebsiella pneumoniae* with extended-spectrum beta-lactamase activity associated with a necrotizing enterocolitis outbreak. Pediatr Infect Dis J 1999; 18: 963-7.
6. *Kędzierska J, Doleżal M, Kachlik P*. Ocena stanu lekooporności pałeczek Gram-ujemnych wyosobnionych z materiału klinicznego. Med Dośw Mikrobiol 1999; 51: 113-23.

7. *Kędzierska J, Janik J, Doleżał M, Dudek B*. Analiza profilu bakteriologicznego noworodków i środowiska Oddziałów Neonatologicznych Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. Klin Chorób Zak i Zak Szp 2000; 4: 1.
8. *Mandar R, Mikelsaar M*. Przechodzenie mikroflory od matki do noworodka w okresie porodu. Biol Neonate 1996; 69: 30-5.
9. *Maszkiewicz W, Kołcz B, Rotter K*. Kolonizująca flora bakteryjna hospitalizowanych w Oddziale Patologii Noworodków. Ped Pol 1991; 66: 5-6.
10. *Maszkiewicz W, Poteraj-Kubicka B*. Zakażenia gronkowcem u noworodków, obraz kliniczny i wyniki leczenia. Post Neonatol 1996; Supl. 2, 128.
11. *Maszkiewicz W*. Zakażenia szpitalne - wiodący problem współczesnej neonatologii. Post Neonatol 1996; Supl. 2, 53.
12. *Młynarczyk G, Młynarczyk A, Łuczak M* i inni. Wrażliwość na wankomycynę i teikoplaninę koagulazo-ujemnych szczepów z rodzaju *Staphylococcus* izolowanych z materiału klinicznego. Med Dośw Mikrobiol 1999; 51: 17-25.
13. *Paule SM, Pasquariello AC, Hacek DM* i inni. Direct detection of *Staphylococcus aureus* from adult and neonate nasal swab specimens using real-time polymerase chain reaction. J Mol Diagn 2004; 6: 191-6.
14. *Pawińska A*. Oporność na wankomycynę u *Staphylococcus aureus*. Zakażenia 2/2003.
15. *Rokosz A, Sawicka-Grzelak A, Mielczarczyk J* i inni. Wrażliwość ESBL-dodatnich szczepów klinicznych pałeczek Gram-ujemnych na beta-laktamowe i nie-beta-laktamowe leki przeciwbakteryjne. Med Dośw Mikrobiol 2001; 53: 373-9.
16. *Shiojima T, Ohki Y, Nako Y* i inni. Immediate control of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak in a neonatal intensive care unit. J Infect Chemother 2003; 9: 243-7.
17. *Silva H, Abdallah V, Carneiro C* i inni. Infection and colonization by *Staphylococcus aureus* in high risk nursery of a Brazilian Teaching Hospital. Brazilian J Infect Dis 2003; 7: 381-6.
18. *Stone PW, Gupta A, Loughrey M* i inni. Attributable costs and length of stay of an extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* outbreak in a neonatal intensive care unit. Infect Control Hosp Epidemiol 2003; 24: 601-6.
19. *Strzelczyk B, Sułczyński J, Maszkiewicz W* i inni. Analiza porównawcza flory bakteryjnej wyizolowanej od dzieci i środowiska dwóch oddziałów neonatologicznych różnych województw. Post Neonatol 2002; Supl. 2, 77.
20. *Swietlicki P, Pałczyński B, Łużny E* i inni. Czas pęknięcia błon płodowych a ryzyko zakażenia wewnątrzmacicznego. Post Neonatol 2002; Supl. 2, 78-81.
21. *Szczapa J, Wojsyk-Banaszak I*. Profilaktyka zakażeń szpitalnych u noworodków. Zakażenia 1/2004.

Otrzymano: 13 X 2008 r.
Adres Autora: 92-213 Łódź, ul. Pomorska 251, Zakład Mikrobiologii Lekarskiej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi