

BRIEF REPORT

Diagnosis of Sepsis in Children Using the BACTEC Method

Golnar Rahimzadeh¹,
Mohammad Reza Navaeifar²,
Shaghayegh Rezai³,
Mohammad Sadegh Rezai⁴,
Faezeh Sadat Movahedi⁵

¹ Assistant Professor, Pediatric Infectious Diseases Research Center, Communicable Diseases Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Assistant Professor, Pediatric Infectious Diseases Research Center, Communicable Diseases Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ PhD Student in Medical Bacteriology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

⁴ Professor, Pediatric Infectious Diseases Research Center, Communicable Diseases Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁵ MSc Student in Biostatistics, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received August 6, 2020 ; Accepted October 31, 2020)

Abstract

Background and purpose: Sepsis is a bacterial infection. Many patients lose their lives due to delayed diagnosis. The BACTEC method could be used for rapid and precise diagnosis of sepsis which can isolate different organisms in the shortest time with maximum sensitivity. This study aimed to identify the prevalence of positive blood cultures using the BACTEC in children with sepsis and to determine the type of pathogens.

Materials and methods: A retrospective study was performed in 269 children hospitalized in different pediatric units in Sari Bouali Sina Hospital, who needed blood culture in 2017-2019. Microbial diagnostic tests were conducted and antibiotic resistance was determined using the Kirby-Bauer test. Data analysis was done in SPSS V23.

Results: Positive blood cultures were seen in 28.6% of the 269 samples. The most common gram-positive and gram-negative pathogens were *Staphylococcus aureus* (n=20, 7.4%) and *Pseudomonas aeruginosa* (n=6, 2.2%), respectively. *S. aureus* isolates were highly resistant to ciprofloxacin (14.3%) and *P. aeruginosa* isolates were found to be highly resistant to meropenem, gentamicin, and nitrofurantoin (12.5%).

Conclusion: For empirical therapy of sepsis with *S. aureus* and *P. aeruginosa*, vancomycin and ceftazidime are recommended, respectively.

Keywords: blood culture, children, sepsis, BACTEC

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 30 (191): 96-101 (Persian).

* Corresponding Author: Mohammad Sadegh Rezai - Pediatric Infectious Diseases Research Center, Communicable Diseases Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: drmsrezai@yahoo.com)

تشخیص سپسیس در کودکان با روش BACTEC

گلنار رحیم زاده^۱

محمد رضا نوایی فر^۲

شقایق رضائی^۳

محمد صادق رضائی^۴

فائزه سادات موحدی^۵

چکیده

سابقه و هدف: سپسیس یک عفونت باکتریایی است. بیماران زیادی در اثر تاخیر در تشخیص جان خود را از دست می‌دهند. به منظور تشخیص دقیق و سریع سپسیس از دستگاه BACTEC می‌توان بهره برد. این روش قادر به جدا کردن ارگانیسم‌های مختلف در کوتاه‌ترین زمان با حداقل حساسیت می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه، تعیین میزان فراوانی کشت خون مثبت در کودکان مبتلا به سپسیس با استفاده از دستگاه BACTEC و تعیین نوع پاتوژن آنها در بیمارستان بوعلی سینا ساری در سال ۹۶-۹۸ می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه گذشته نگر است. کودکان بستری در طی سال‌های ۱۳۹۶ تا ۱۳۹۸ در بخش‌های مختلف اطفال در بیمارستان بوعلی سینا ساری بر حسب تشخیص پزشک که نیاز به کشت خون داشتند، وارد مطالعه شدند. تست‌های تشخیصی میکروبی انجام شد. مقاومت آنتی‌بیوتیکی با تست Kirby-Bauer تعیین شد. اطلاعات به دست آمده به کمک نرم‌افزار 23 SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: از ۲۶۹ نمونه کشت داده شده، ۲۸/۶ درصد مثبت شدند. شایع‌ترین پاتوژن‌های گرم مثبت و گرم منفی به ترتیب استافیلوکوکوس اورئوس با ۲۰ مورد (۷/۴ درصد) و پسودوموناس اثروژینوزا با ۶ مورد (۲/۲ درصد) بودند. بیشترین مقاومت در استافیلوکوکوس اورئوس به سپروفلوكسازین (۱۴/۳ درصد) و در پسودوموناس اثروژینوزا به مروپین، جنتامیسین و نیتروفورانتوئین (۱۲/۵ درصد) مشاهده شد.

استنتاج: برای درمان تجربی سپتی سمی با تایید استافیلوکوکوس اورئوس و پسودوموناس اثروژینوزا به ترتیب ونکومایسین و سفتازیدیم پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: کشت خون، کودکان، سپسیس، BACTEC

مقدمه

افزایش ضربان قلب و افزایش یا کاهش گلبول‌های سفید بروز می‌نماید^(۱). در سراسر دنیا سالانه حدود ۲۰۰۰۰۰ مورد سپتی سمی رخ می‌دهد که ۵۰-۲۰ درصد

سپتی سمی سندرم پاسخ التهابی سیستمیک است که توسط باکتری‌ها ایجاد می‌شود. این بیماری با علائم افزایش یا کاهش درجه حرارت بدن، تنفس‌های سریع،

E-mail: drmsrezaei@yahoo.com

مؤلف مسئول: محمد صادق رضایی - ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندران، مرکز آموزشی درمانی بوعلی سینا

۱. استادیار، مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده بیماری‌های واگیر، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. استادیار، مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده بیماری‌های واگیر، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. دانشجوی دکترا تخصصی باکتری شناسی پزشکی، گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۴. استاد، مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده بیماری‌های واگیر، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۵. دانشجوی کارشناسی ارشد آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۱۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۹/۵/۲۷ تاریخ تصویب: ۱۳۹۹/۵/۱۰

فراوانی کشت خون مثبت با استفاده از دستگاه BACTEC در کودکان مبتلا به سپتیسمی و تعیین نوع پاتوژن آن‌ها در شهرستان ساری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه گذشته‌نگر است. بدین ترتیب که کودکان بستری در طی سال‌های ۱۳۹۶ تا ۱۳۹۸ در بخش‌های مراقبت ویژه کودکان (PICU)، بخش مراقبت ویژه نوزادان (NICU)، جراحی اطفال، انکولوژی و عفونی اطفال در بیمارستان بوعلی سینا ساری بر اساس تشخیص بالینی پزشک معالج و با معیار ورود: بیماران تا سن ۱۸ سال با تعداد سلول‌های خونی سفید ($WBC > 15000$)، $WBC < 5000$ ، هیپوترمی، هیپرترمی، تاکی کاردی، کاهش فعالیت، بی‌حالی، عدم تمایل به شیر خوردن، لثارژی، کاهش رفلکس‌های نوزادی، رنگ پریدگی، آپنه، سیانوز، تظاهرات پوستی و اتساع شکم مورد بررسی قرار گرفتند. معیار خروج شامل موارد آلدگی کشت خون (مثبت کاذب) با نظر پزشک معالج حذف گردید.

در شرایط استریل، ۱-۳ میلی لیتر خون وریدی به بطری کشت خون BACTEC Peds Plus / F (Peds Plus) تلقیح و در دستگاه BD BACTEC FX 40 انکوبه شد. پس از اعلام مثبت شدن کشت خون، برای تشخیص نوع باکتری، نمونه‌های خون بر روی محیط‌های بلاد آگار، مک کانگی آگار و ائوزین متیلن بلو آگار کشت داده شدند و یک شبانه روز در انکوباتور در دمای 37°C انکوبه شدند. پس از یک شبانه روز، بر حسب نوع باکتری گرم مثبت یا گرم منفی، انواع تست‌های تشخیصی میکروبی انجام شدند. برای تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تست آنتی‌بیوگرام به روش Kirby Bauer انجام شد. اطلاعات به دست آمده به کمک نرم‌افزار SPSS 23 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها و بحث

در مطالعه حاضر از ۲۶۹ نمونه خون، ۳۰ نمونه

آن‌ها به مرگ منتهی می‌شود. شیوع سپتیسمی در کودکان ۳-۲۹ درصد است^(۳). میکروارگانیسم‌های ایجاد‌کننده سپتیسمی شامل استرپتوکوک گروه B، اشرشیا کلی، کلبسیلا، لیستریا مونوسیتوژن و هموفیلوس آنفلوآنزا می‌باشند. در کودکان زیر ۵ سال سالمونلا، استافیلوکوکوس اورئوس و گروه استرپتوکوکوس A و در نوزادان نارس، استافیلوکوکوس کواگلولاز منفی شایع‌ترین عوامل سپتیسمی می‌باشند^(۴).

در صورت بروز سپتیسمی، تشخیص سریع و صحیح میکروارگانیسم ایجاد‌کننده در نجات بیمار نقش مهمی دارد. بیماران زیادی در اثر تاخیر و عدم تشخیص صحیح نوع میکروارگانیسم و همچنین تاخیر در شروع درمان مناسب جان خود را از دست می‌دهند. در حال حاضر جهت تشخیص سپتیسمی، کشت خون به روش دستی، یک روش مرسوم و استاندارد است. مزیت این روش ارزانی و آلدگی کم آن می‌باشد. نقص این روش به علت زمان طولانی کشت، نتیجه منفی کاذب به علت مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، شرایط نامطلوب رشد مانند دما و موادمغذی می‌باشند^(۵,۶). امروزه جهت تشخیص سپتیسمی، می‌توان از دستگاه‌های پیشرفته‌تری مانند BACTEC بهره برد. در این روش طی مدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت نتیجه کشت با حساسیت حداقل ۹۰ درصد بدست می‌آید. روش تمام اتوماتیک از نظر سرعت و حساسیت نسبت به روش دستی برتری دارد. در این سیستم از تکنولوژی فلورئورسنت بهره گرفته شده است. فلورسانس موجود در هر ۱۰ تا ۲۰ دقیقه در طول روز نمونه کشت خون را کنترل می‌نماید تا گاز کربنیک آزاد شده ناشی از رشد میکروب را اندازه‌گیری نماید^(۷).

با توجه به این که میزان شیوع سپتیسمی و پاتوژن‌های شایع آن از منطقه‌ایی به منطقه دیگر و در زمان‌های مختلف متفاوت می‌باشد^(۸) و از آن‌جایی که در سپتیسمی تشخیص سریع و به موقع عفونت خون و نوع ارگانیسم ایجاد‌کننده آن در شروع درمان مناسب نقش اساسی دارد، هدف از این مطالعه تعیین میزان

جدول شماره ۱: توزیع فراوانی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی در نمونه های خون با کشت مثبت با روش BACTEC

تعداد (درصد)	کشت
(۷۱/۴) ۱۹۲	عدم رشد
(۰/۰) ۲	باکتری های گرم منفی سیتروباکتر فروندی
(۱/۵) ۴	انتروباکتر
(۱/۱) ۳	اشریسیاکل
(۱/۰) ۴	کلبیسیلا پنومویه
(۲/۲) ۶	پسودوموناس اثروژینوزا
(۰/۴) ۱	باکتری های گرم مثبت استریپوکوک پنومویه
(۷/۷) ۲۰	استافیلوکوک اورئوس
(۵/۹) ۱۶	استافیلوکوک اپیدرمیدیس
(۶/۳) ۱۷	عفونت فارچی موارد دیگر
(۱/۵) ۴	آلودگی میطحلی
(۱۰/۰) ۲۶۹	جمع
(۳۳/۴) ۱۹	باکتری گرم منفی
(۶۶/۱) ۱۷	باکتری گرم مثبت
(۱۰/۰) ۵۶	جمع

در مطالعه حاضر استافیلوکوک اورئوس ۱۴/۳ درصد) بیش ترین مقاومت را به سیپروفلوکساسین نشان داد. مقاومت به اگزاسیلین در استافیلوکوک اورئوس ۶/۱ درصد) و استافیلوکوک اپیدرمیدیس ۱۰/۲ درصد) مشاهده شد. حساسیت باکتری های گرم منفی به سفالوسپورین های نسل سوم مانند سفو تاکسیم و سفتازیدیم وجود دارد اما مقاومت به سیپروفلوکساسین در گرم منفی ها و گرم مثبت ها بالا می باشد (جدول شماره ۲).

در مطالعه Gupta در سال ۱۹۸۹، حساسیت گرم منفی ها به سفالوسپورین های نسل سوم مانند سفو تاکسیم و سیپروفلوکساسین نیز تایید شد (۱۴). با توجه به این که از ورود سفالوسپورین های نسل سوم به عرصه پژوهش کی مدت زمان زیادی نمی گذرد، اما در عصر حاضر مقاومت در این موارد مشهود است. لذا جهت جلوگیری از ایجاد مقاومت بیش تر به آن ها بهتر است با احتیاط و در موارد عفونت های جدی مورد استفاده قرار بگیرند.

در مطالعه حاضر باکتری های گرم مثبت و گرم منفی نسبت به آمپسیلین مقاوم بودند، اما در مطالعه Mathur و همکاران، حساسیت به آمپسیلین در گرم منفی ها ۹۵-۹۷ درصد و در گرم مثبت ها ۷۵ درصد گزارش شد (۱۵). مقایسه نتایج این مطالعه با نتایج ما تایید کننده

۱۱/۲ درصد) به بخش مراقبت های ویژه نوزادان (NICU)، ۳۸ نمونه (۱۴/۱ درصد) به بخش انکولوژی، ۱۵۲ نمونه (۵۶/۵ درصد) به بخش مراقبت های ویژه اطفال (PICU)، ۲۲ نمونه (۸/۲ درصد) به بخش جراحی، ۸ نمونه (۴/۱ درصد) به بخش عفونی اطفال تعلق داشتند. تجزیه و تحلیل آماری نشان داد کشت خون در ۷۷ (۲۸/۶ درصد) و ۷۱/۴ (۷۱/۴ درصد) مورد به ترتیب مثبت و منفی شدند. ۴ نمونه (۱/۵ درصد) با نتیجه کشت مثبت به عنوان آلودگی محیطی گزارش شدند. در مطالعه هایی، کشت خون مثبت در کودکان مبتلا به سپتی سمی در نیجریه بین ۵۹/۸-۲۳/۹ درصد، هندوستان ۴/۴۴-۴/۳ درصد، پاکستان ۵۴-۶۲/۸ درصد و در ایران ۴۹-۵/۲۷ درصد گزارش شد. این اختلاف میزان شیوع سپتی سمی در مناطق مختلف به علت روش های متفاوت مطالعه، روش های مختلف کشت نمونه خون، نحوه نمونه گیری و مصرف آنتی بیوتیک ها می باشد (۹-۱۲).

در مطالعه حاضر توزیع فراوانی باکتری های گرم مثبت با ۳۷ مورد (۶۶/۱ درصد) نسبت به باکتری های گرم منفی بیش تر بود. استافیلوکوکوس اورئوس با ۲۰ مورد ۷/۴ درصد) و پسودوموناس اثروژینوزا با ۶ مورد (۲/۲ درصد) بودند (جدول شماره ۱). طولانی ترین و کوتاه ترین زمان متوسط مثبت شدن کشت خون به ترتیب مربوط به نمونه های آلوده با اشریسیاکلی (۲۲ ساعت) و کلبیسیلا (۱۵ ساعت) مشاهده شد.

در یک مطالعه در کشور نیجریه، شایع ترین باکتری های ایجاد کننده سپتی سمی در کودکان را باکتری های گرم مثبت (۶۳/۲ درصد) گزارش کردند. مشابه مطالعه حاضر استافیلوکوکوس اورئوس (۳۳/۸ درصد) به عنوان مهم ترین عامل سپتی سمی گزارش شد. سایر باکتری های گرم منفی شامل کلبیسیلا ۱۴ درصد، اشریسیاکلی ۷ درصد، انتروباکتر ۵ درصد، پسودوموناس آثروژینوزا ۳ درصد نیز گزارش شدند (۱۳).

جهت درمان تجربی پسودوموناس آنروزینوزا پیشنهاد می‌گردد. تشخیص سریع و صحیح پاتوژن‌های عامل سپتی سمی در درمان صحیح و به موقع آن کمک کننده است. استفاده از روش‌های خودکار مانند دستگاه BACTEC امکان تشخیص سریع پاتوژن و درمان به موقع را فراهم می‌سازد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از آزمایشگاه مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده بیماری‌های واگیر، بیمارستان بوعلی سینا جهت فراهم نمودن امکانات و تجهیزات مناسب تحقیقاتی تشکر و قدردانی می‌گردد.

این مساله است که آمپیسیلین آنتی‌بیوتیک وسیع الطیف است که به طور بی‌رویه در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بدون در نظر گرفتن افزایش مقاومت تجویز می‌شود(۱۶).

در مطالعه حاضر دستگاه BACTEC قابلیت تعیین جنس و گونه پاتوژن‌ها و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در آن‌ها را نداشت. با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه، سپتی سمی همچنان یک معظل جدی در بخش‌های نوزادان و اطفال می‌باشد. جهت درمان تجربی استافیلوکوک اورئوس به عنوان پاتوژن شایع گرم مثبت در سپتی سمی، مصرف منطقی و نکو مايسين پیشنهاد می‌شود. سفتازیديم به عنوان یک جايگزین مناسب

جدول شماره ۲: مقاومت دارویی باکتری‌های ایزوله شده از نمونه‌های خون

آنتی‌بیوتیک‌ها	آنتی‌بیوتیک														
	پسودوموناس آنروزینوزا			کلیپیلا پنومونیه			انتروباکتر			اشتریشیاکلی					
آنتی‌بیوتیک‌ها	مقاومت	مقاومت	مقاومت	مقاومت	مقاومت	مقاومت	مقاومت	مقاومت	مقاومت	مقاومت	مقاومت	مقاومت			
P (%)	F	P (%)	F	P (%)	F	P (%)	F	P (%)	F	P (%)	F	P (%)			
پنی‌فوکاتنین	۱۳.۶	۸	۱۰.۲	۵	آمپیسین	۴۰.۰	۳	۵۹	۱	۰	۰	۱۲.۵	۲	۱۶.۷	۱
مروفین	۰	۰	۲۰	۱	کلیدانامیسین	۳۱.۷	۳	۵۹	۱	۲۵.۰	۲	۱۲.۵	۲	۱۶.۷	۱
سپروفلوكاسپین	۱۰.۲	۶	۱۲.۲	۶	آزتریماسین	۹.۷	۱	۵۹	۱	۰	۰	۹.۳	۱	۱۶.۷	۱
ابی‌پن	۱۵.۳	۹	۱۴.۳	۷	سپروفلوكاسپین	۹.۷	۱	۱۲.۸	۲	۱۲.۵	۱	۹.۳	۱	۱۶.۷	۱
سقفریاکسون	۱۰.۲	۶	۱۰.۲	۵	کاربپنیلین	۳۱.۷	۴	۵۹	۱	۲۵.۰	۲	۹.۳	۱	۰	۰
جنتمامیسین	۱۰.۲	۶	۶.۱	۳	اگزامیلین	۲۵.۸	۳	۱۱.۸	۲	۱۲.۵	۱	۱۲.۵	۲	۰	۰
سفوتاکسین	۱۰.۲	۶	۶.۱	۳	ونکوپین	۶.۳	۱	۰	۰	۶.۳	۱	۰	۰	۰	۰
تریمتوبیرم سولفاماتاکازول	۱.۷	۱	۷.۰	۱	آموکسی‌سیلین/کلادولانیک اسید	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۶.۳	۱	۰	۰
سفکتیم	۱.۷	۱	۷.۰	۱	ستفازیديم	۲۵.۸	۳	۱۱.۸	۲	۲۵.۰	۲	۶.۳	۱	۰	۰
ستفازیديم	۶.۷	۱	۰	۰		۶.۷	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰

References

- Nwadioha SI, Nwokedi EOP, Kashibu E, et al. A review of bacterial isolates in blood cultures of children with suspected septicaemia in a Nigerian Tertiary Hospital. Afr J Microbiol Res 2010; 4(4): 222-225.
- Powell KR. Sepsis and shock. In Behrman RE, Kleigman RM, Jenson HB, (eds). Nelson Textbook of Pediatrics 16th ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2000. p. 747-751.
- Weiss SL, Fitzgerald JC, Pappachan J, Wheeler D, Jaramillo-Bustamante JC, et al. Global Epidemiology of Pediatric Severe Sepsis: The Sepsis Prevalence, Outcomes, and Therapies Study. Am J Respir Critical Care Med 2015; 191(10): 1147-1157.
- Saner FH. Sepsis and infection. In: Wagener G, (eds). Liver Anesthesiology and Critical Care Medicine. Springer, Cham; 2018.
- Dolin H, Papadimos T, Chen X, Pan Z. Characterization of Pathogenic Sepsis Etiologies and Patient Profiles: A Novel Approach to Triage and Treatment. Microbiol Insights 2019; 12:1-8.
- Henry JB. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 19th ed. Philadelphia: WB Saunders: 1996.

7. Weinstein MP, Mirrett S, Wilson ML, Harrell LJ, Stratton CW, Reller LB. Controlled evaluation of BACTEC Plus 26 and Roche Septi-Chek aerobic blood culture. *J Clin Microbiol* 1991; 29(5): 879-882.
8. Sharif M, Hoseinian M, Moosavi SGA, Sharif A. Etiology of bacterial sepsis and bacterial drug resistance in hospitalized neonates of Shahid Beheshti Hospital of Kashan in 1996 and 1997. *Feyz* 2000; 12: 71-77.
9. Rahman S, Hameed A, Roghani MT, Ullah Z. Multidrug resistant neonatal sepsis in Peshawar, Pakistan. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2002; 87(1): F52-F54.
10. Joshi SG, Ghole VS, Niphadkar KB. Neonatal gram-negative bacteremia. *Indian J Pediatr* 2000; 67(1):27-32.
11. Ojukwu JU, Abonyi LE, Ugwu J, Orji IK. Neonatal septicemia in high risk babies in South-Eastern Nigeria. *J Perinat Med* 2006; 34(2): 166-172.
12. Hashemieh M, Fatahi Bayat G. Evaluation of neonatal sepsis in neonatal wards in Taleghani and Amirkabir hospitals in Arak city in 1999. Danesh Rahavard. *Journal of Arak University of Medical Sciences* 2001; 4(1): 37-42 (Persian).
13. Omorogie R, Egbe CA, Dirisu J, Ogefere H. Microbiology of neonatal septicemia in a tertiary hospital in Benin City, Nigeria. *Biomarkers and Genomic Medicine* 2013; 5(4): 142-146.
14. Gupta BL, Tahlan A, Dogra V, Ratnani A, Bhujwala RA, Shrinivas. Susceptibility of clinical isolates to cephalexin, cephazoline and cefotaxime. *Indian J Pediatr* 1989; 26(5): 446-471.
15. Mathur NB, Khalili A, Sarkar Puri RK. Mortality in neonatal septicemia with involvement of mother in management. *Indian Pediatrics* 1991; 28(11): 1259-1264.
16. Hanberger H, Diekema D, Fluit A, Jones R, Struelens M, Spencer R, et al. Survivalence of antibiotic resistance in European ICUS. *J Hosp Infect* 2001; 48(3): 161-176.