

سروتایپینگ سویه‌های *Streptococcus pneumoniae* جدا شده از عفونت‌های مختلف در تهران در سال ۱۳۸۷

علی مهرابی توانا^{۱*}، رمضانعلی عطائی^۲، اسمعیل حسین نجدگرامی^۲، محمد مهدی گویا^{۳و۴}، محمد رهبر^۵

(۱) مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (ع)

(۲) مرکز تحقیقات کاربرد درمانی توکسین های میکروبی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (ع)

(۳) گروه بیماری های عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

(۴) مرکز مدیریت بیماری های واگیر، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

(۵) آزمایشگاه مرجع سلامت

نویسنده رابط: علی مهرابی توانا، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (ع)

mehrab@bmsu.ac.ir

همراه: ۰۹۱۲۱۰۹۷۳۵۸

تاریخ دریافت مقاله: ۸۷/۱۲/۵ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۴/۲۲

چکیده:

زمینه و اهداف: /ستریپتوکوکوس پنمونیه باکتری پاتوژنی است که به طور عمده سبب عفونت گوش میانی، پنمونی، و مننژیت می‌شود. همچنین این باکتری دومین عامل عمده مننژیت در کودکان زیر دو سال است. براساس تفاوت‌های آنتی‌ژنیک در پلی ساکارید های کپسولی این باکتری بیش از ۹۰ سروتیپ شناسایی شده است. انتشار سروتیپ ها براساس گروه‌های سنی، علائم بالینی و مناطق جغرافیایی متغیر است. هدف از این مطالعه تشخیص سروتیپ‌های غالب /ستریپتوکوکوس پنمونیه مسبب بیماری‌های مختلف در تهران در سال ۱۳۸۷ بود.

روش بررسی: در این تحقیق ۵۰ ایزوله /ستریپتوکوکوس پنمونیه جدا شده از بیماران مراجعه کننده به مراکز آموزشی درمانی استان تهران جمع آوری شد و مجدداً مورد تأیید قرار گرفت. سپس ایزوله‌ها به روش استاندارد تورم کپسول (کوالانگ) سروتایپینگ شدند (براساس دستورالعمل انستیتو سرم (SSI) دانمارک). اطلاعات حاصل تجزیه و تحلیل و نتیجه گیری شد.

یافته‌ها: از ۵۰ ایزوله /ستریپتوکوکوس پنمونیه جدا شده از بیماران مراجعه کننده به مراکز آموزشی درمانی استان تهران ۱۸ ایزوله (۳۶٪) از دستگاه تنفس، ۱۳ ایزوله (۲۶٪) از عفونت های خونی، ۱۰ ایزوله (۲۰٪) از عفونت چشم و ۷ ایزوله (۱۴٪) از سایر عفونت‌ها بودند. شایع ترین سروتیپ‌ها 6A و 6B بودند. سروتیپ غالب در بزرگسالان ۲ و در کودکان گروه ۱۹ (شامل 19B, 19A, 19F 19C) بود. سروتیپ‌های غالب برحسب نوع عفونت به ترتیب گروه های ۷، ۱۹ و سروتیپ ۴ در عفونت‌های دستگاه تنفس، چشم و خون بودند.

نتیجه گیری: سروتیپ غالب گروه ۶ است که بین کودکان و بزرگسالان مشترک می باشد.

کلید واژه ها: /ستریپتوکوکوس پنمونیه، تایپینگ، سروتیپ

مقدمه:

استرپتوکوکوس پنمونیه باکتری پاتوژنی است که به طور عمده باعث ایجاد عفونت گوش میانی و پنمونی می شود. این باکتری دومین عامل عمده مننژیت در کودکان زیر دو سال هم هست (۱ و ۲). شروع پنمونی پنموکوکی معمولاً ناگهانی و همراه با تب و لرز، درد شدید در ناحیه سینه، خلط آجری رنگ و یا خونی مشابه ترشحات آلونولی است. در اوائل بیماری که تب بالاست در حدود ۱۰ تا ۲۰ درصد موارد، باکتری می هم مشاهده می شود. پس از به کار بردن آنتی بیوتیک ها به ویژه در مواردی که دارو سریع تجویز می شود، بیمار کاملاً بهبود می یابد و از پیشرفت ضایعه ریوی جلوگیری می شود (۳). در ایالات متحده آمریکا و اروپا ۲۵ الی ۴۰ درصد از مننژیت ها را پنموکوک ایجاد می کند. اخیراً براساس تفاوت های آنتی ژنیک در پلی ساکاریدهای کپسولی پنموکوک بیش از ۹۰ سروتیپ شناسایی شده است. انتشار سروتیپ ها براساس گروه های سنی، علائم بالینی و مناطق جغرافیایی متغیر است. تفاوت های ناحیه ای در شیوع سروتیپ های اختصاصی و فهم سروتیپ های هر ناحیه جغرافیایی بسیار مهم است (۴). پنموکوک از طریق مجاری تنفسی می تواند به سایر نقاط بدن راه یابد. سینوس ها و گوش داخلی بیش از همه در معرض خطر هستند. این باکتری همچنین از طریق خون یا ماستوئید به مننژ رسیده و ایجاد مننژیت می کند. باکتری می پنموکوکی گاهی عوارض شدیدی مانند مننژیت، اندوکاردیت و آرتریت عفونی ایجاد می کند. امروزه اندوکاردیت حاد پنموکوکی به علت استفاده بموقع آنتی بیوتیک ها به ندرت دیده می شود (۷-۵). استرپتوکوکوس پنمونیه دارای ۴۰ سرورگروه و ۹۰ سروتیپ است. لذا، در طراحی واکسن پلی والان موثر اطلاعات اپیدمیولوژیک، پتانسیل تغییرپذیری آنتی ژن های انحصاری، امکان تداخل آنتی ژنیک، و امکان پذیری فناوری باید به دقت مد نظر قرار بگیرد (۸ و ۹). اساس طبقه بندی سروتیپ های استرپتوکوکوس پنمونیه، ترکیبات شیمیایی آنتی ژن پلی ساکاریدی کپسول است (۱۰ و ۱۱). و با آنکه شیوع سروتیپ ها در مناطق مختلف جغرافیایی فرق می کند، اما عفونت های پنموکوکی فقط توسط تعداد محدودی از سروتیپ ها ایجاد می شود (۱۲-۱۴).

به مشکلات فنی نگهداری ارگانیزم و دسترسی به آنتی سرم های لازم جهت تایپینگ آن به عنوان مشکلاتی که در فرا روی این کار قرار دارند، می توان اشاره کرد. لذا، بررسی اولیه به صورت یک مطالعه پایلوت و با هدف تعیین سروتیپ های غالب استرپتوکوکوس پنمونیه، در بیماری های مختلف نظیر اوتیت میانی، باکتری می، عفونت چشم، سپتی سمی و غیره، انجام شد.

مواد و روش ها:

ضمن هماهنگی با آزمایشگاه های مراکز آموزشی درمانی مستقر در تهران طی ۱۸ ماه (از مهر ماه ۱۳۸۶ الی اسفند ماه ۱۳۸۷) تنها ۵۰ سویه استرپتوکوکوس پنمونیه از بیماران جداسازی شدند. پس از آزمایش های تشخیصی اولیه، سویه ها به آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) منتقل شدند. با انجام آزمون های بیوشیمیایی و دیسک های اپتوشین و باسیتراسین شناسایی دقیق صورت گرفت. با بررسی روش های مختلف سروتایپینگ (۱۷-۱۵)، از روش استاندارد کوآلنگ استفاده شد. آنتی سرم ها از انستیتو سرم دانمارک (Statens Serum Institut= SSI) خریداری شدند.

اطلاعات حاصل برای تجزیه و تحلیل و نتیجه گیری به رایانه منتقل و تصویر روشنی از انتشار استرپتوکوکوس پنمونیه در مراکز درمانی آموزشی استان تهران حاصل شد. از سوی دیگر، برای داشتن بانکی از سویه های جمع آوری شده، که بتوان آنها را درازمدت و برای مصارف متعدد نگه داری کرد، سویه ها لیوفیلیزه شدند. با توجه به امکانات خوب و استاندارد سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران حدود ۱۱ ویال از هر نمونه و در حدود ۳۵ سویه لیوفیلیزه شدند.

یافته ها:

۱۸ سویه (۳۶٪) از دستگاه تنفس، ۱۳ سویه (۲۶٪) از عفونت های خون، ۱۰ سویه (۲۰٪) از عفونت چشم و ۹ سویه (۱۸٪) از سایر عفونت ها جدا شده بودند. فرآیند مورد استفاده برای سروتایپینگ سویه های استرپتوکوکوس پنمونیه سامانه شطرنجی استاندارد انستیتو SSI بود. (جدول ۱).

جدول ۲ فراوانی و نوع تیپ یا گروه را برای ۵۰ سویه نشان می دهد.

سویه شماره ۵۰ با هیچکدام از آنتی سرم ها واکنش نداد و به عنوان مجهول منظور شد. این سویه که سروتیپ آن مجهول بود در جدول فوق لحاظ نشد.

توزیع فراوانی سروتیپ ها به تفکیک اندام های مختلف در نمودار ۱ ارایه شده است.

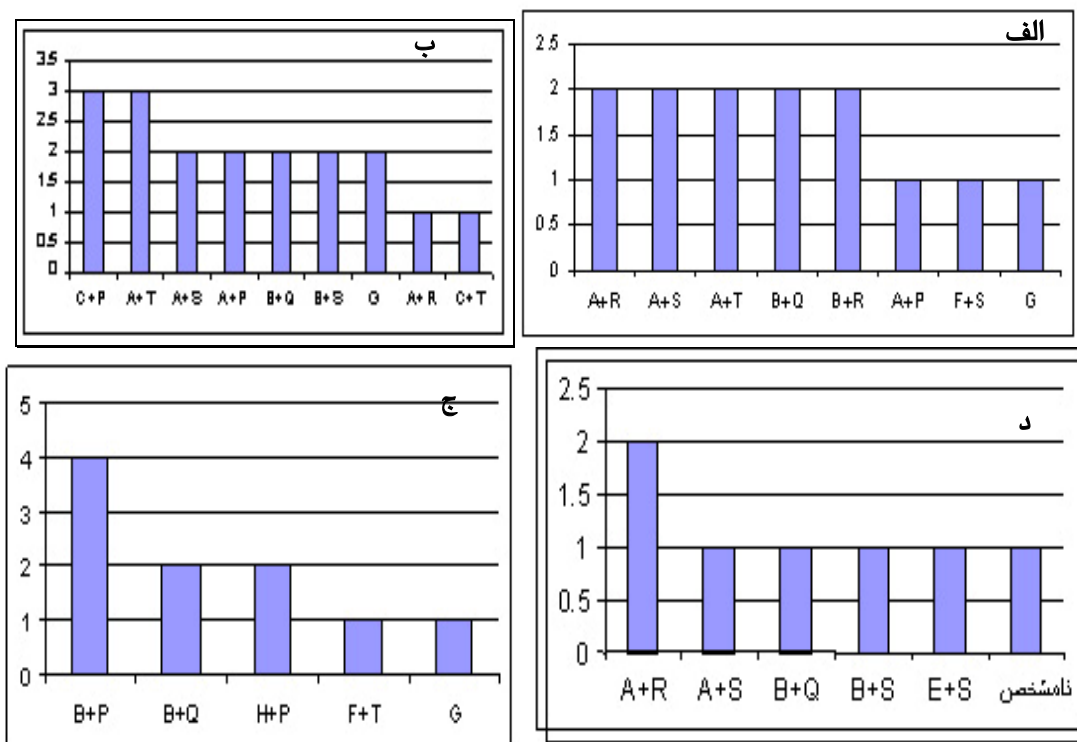
سروتیپ های جدا شده از گروه های اطفال و بزرگسالان در جدول ۳ نشان داده شده اند.

جدول ۱: سامانه شطرنجی برای تعیین تیپ یا گروه بندی پنموکوک

	P	Q	R	S	T	تیپ های غیر واکسنی
A	1	18*	4	5	2	
B	19*	6*	3	8		
C	7*				20	24,* 31, 40
D			9*		11*	16,* 36, 37
E			12*	10*	33*	21, 39
F				17*	22*	27, 32,* 41*
H	14	23*		15*		13, 28*
G						29,34,35,*42, 47*
I						25,38,43,44,45,46, 48

جدول ۲: فراوانی نوع تیپ یا گروه سویه ها

	P	n	Q	n	R	n	S	N	T	n		
A	1	4	18*	1	4	4	5	5	2	5		
B	19*	4	6	6	3	3	8	3				
C	7*	3							20	2		
D					9*				11*			
E					12*		10*	1	33*			
F							17*	1	22*	1		
H	14	2	23*				15*					
G											29,34,35,*42,47*	4
I		13		7		7		10		8		49



نمودار ۱: توزیع فراوانی سروتیپ‌ها به تفکیک نوع عفونت.

الف) دستگاه تنفس، ب) دستگاه گردش خون، ج) عفونت چشم، د) سایر عفونت‌ها

جدول ۳: سروتیپ‌های جدا شده از اطفال و بزرگسالان

سروتیپ های جدا شده از اطفال	سروتیپ های جدا شده از بزرگسالان
۱	۱
۴	۴
۶A و ۶B	۶A و ۶B
۷F	۷F
۱۴	۱۴
۱۹F	۱۹F
۲۳F	۲۳F
۵	۳
۱۸C	۸
۱۹A	۹V

بحث :

بیشترین سویه‌ها از عفونت‌های تنفسی و خونی هستند و شایع‌ترین سروتیپ‌ها A ۶ و B ۶ هستند. سروتیپ غالب در بزرگسالان ۲ و در کودکان گروه ۱۹ (شامل ۱۹ C, ۱۹ F, ۱۹ A, ۱۹ B) است. نتایج موید عملکرد بهینه سروتایپینگ به روش شطرنجی است. زیرا ضمن صرفه جویی در مصرف آنتی‌سرم، سروتایپینگ و گروه تایپینگ بیش از ۹۵ درصد سویه‌ها موفقیت آمیز بوده است. نتایج نشان داد بیماری‌های شایع پنموکوکسی توسط تعداد خیلی از سروتیپ‌های /ستریپتوکوکوس پنمونیه ایجاد می‌شود. این مطلب مورد تأیید محققین بین‌المللی نیز می‌باشد (۱۸ و ۱۹). سویه‌هایی که با آنتی سرم G واکنش داده‌اند جزو سویه‌های واکنسی ۲۳ والان یا ۷ والان کونزوگه محسوب نمی‌شوند. براساس یافته‌های مشابه، محققین ساخت واکنس به فکر طراحی و ساخت واکنس‌های پلی والان و کونزوگه برای این باکتری افتاده‌اند. زیرا بیش از ۹۰ درصد بیماری‌های پنموکوکسی توسط تعداد معدودی از آنها ایجاد می‌شود.

تایپینگ به روش سامانه شطرنجی به کارایی بسیار بالای این روش در تعیین تیپ یا گروه تمام سویه‌های /ستریپتوکوکوس پنمونیه بر می‌گردد (۱۲، ۲۰ و ۲۱). در تحقیقی که سازمان بهداشت جهانی بر روی ۱۰۰۰۰ سویه جمع‌آوری شده انجام داده است، در سروتایپینگ، فقط حدود ۵ درصد از سویه‌ها با هیچکدام از آنتی‌سرم‌ها واکنش نداده‌اند (۲۱). این میزان در مطالعه حاضر ۲ درصد است، که احتمالاً این تفاوت ناشی از تعداد کم نمونه باشد. از وضعیت تیپ‌های /ستریپتوکوکوس پنمونیه در کشورهای درحال توسعه و به‌ویژه کشورهای آسیای میانه و خاورمیانه اطلاعی در دست نیست. در سال‌های اخیر مطالعات متعددی در جهان در جریان می‌باشد. مطالعه در نپال تیپ‌های غالب را به ترتیب

۱۰ و ۲ و ۵ و A ۱۲ و F ۱۹ و B ۱۹ گزارش می‌کند (۲۲). مطالعات مشابه در مکزیک (۲۳) گامبیا (۲۴) و کره شمالی (۲۵) به وجود سویه‌های غالب در کشورهای خود پرداخته‌اند که می‌توانستند با واکنسیناسیون پیشگیری کنند.

نتیجه گیری:

بیشترین سویه‌ها متعلق به تیپ‌های B+Q می‌باشد که موسوم به گروه ۶ است. این گروه دارای دو سروتیپ A ۶ و B ۶ می‌باشد که بین کودکان و بزرگسالان مشترک است. بیشترین سویه‌های دریافتی از بزرگسالان مربوط به دستگاه تنفس و عمدتاً به تیپ ۲، و بیشترین سویه‌های دریافتی از کودکان مربوط به عفونت‌های چشمی و از گروه ۱۹ با ۴ تیپ مختلف (شامل ۱۹ C, ۱۹ B, ۱۹ A, ۱۹ F) است.

از کاستی‌های این تحقیق می‌توان به بررسی تعداد اندکی از سویه‌های /ستریپتوکوکوس پنمونیه اشاره کرد. اما، با توجه به ادامه مطالعه امید است که این نقیصه در آینده رفع شود.

تقدیر و تشکر:

این مقاله بخشی از طرح تحقیقاتی مرکز بیولوژی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) می‌باشد که با حمایت مالی این دانشگاه و نیز مرکز مدیریت بیماری‌های واگیر وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی انجام شده است. لذا، محققین بر خود لازم می‌دانند که از حامیان و سایر همکاران از جمله اساتید محترم آقایان دکتر مصطفی قانعی، دکتر علی کرمی و دکتر رضا رنجبر تشکر و سپاسگزاری نمایند.

فهرست مراجع:

1. Giorgi Rossi P, Mantovani J, Ferroni E, Forcina A, Stanghellini E, Curtale F, et al. Incidence of bacterial meningitis (2001–2005) in Lazio, Italy: the results of a integrated surveillance system. *BMC Infectious Diseases* 2009, **9**:13. is available in <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/9/13>
2. Klemets P, Lyytikäinen O, Ruutu P, Ollgren J, Nuorti P. Invasive pneumococcal infections among persons with and without underlying medical conditions: Implications for prevention strategies. *BMC Infectious Diseases* 2008, **8**:96. is available in <http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>

3. Hger H L, Woolley T W, Berk S L. Review of recent pneumococcal infections with attention to vaccine and nonvaccine serotypes. *Rev Infect Dis* 1990; **12**: 267-272.
4. Nielsen S V, and Henrichsen J. Capsular types of *Streptococcus pneumoniae* isolated from blood and CSF during 1982-1987. *Clin Infect Dis* 1992; **15**(5):794-798.
5. Black S B, Shinefield H R, Hansen J, Elvin L, Laufer D, Malinoski F. Post licensure evaluation of the effectiveness of seven valent pneumococcal conjugate vaccine. *J Pediatr Infect Dis* 2001; **20**:1105-1107.
6. Robbins J. B, Austrian R, Lee C J, Rastogi S C, Schiffman G, Henrichsen J, *et al.* Considerations for formulating the second-generation pneumococcal capsular polysaccharide vaccine with emphasis on cross-reactivity types within groups. *J Infect Dis* 1983; **148**:1136-1159.
7. Steinberg J J, Levine D S, Desiderio D, Hanna B A. Serotypes of *Streptococcus pneumoniae* recovered from a large urban hospital population: the Bellevue experience from 1973-1984. *Lab Med* 1988; **19**:741-743.
8. Nascimento-Carvalho CM, Freitas-Souza LS, Moreno-Carvalho OA, Alves NN, Caldas RM, Barberino MG, *et al.* Cepas invasivas de pneumococo isoladas de crianças e adolescentes em Salvador. *J Pediatr (Rio J)* 2003; **79**:209-14.
9. Fenoll A, Jado I, Vicioso D, Casal J. Dot blot assay for the serotyping of pneumococci. *J Clin Microbiol* 1997; **35**:764-766.
10. Butler J C, Breiman R F, Campbell J F, Lipman H B, Broome C V, Facklam R R. Pneumococcal polysaccharide vaccine efficacy. An evaluation of current recommendations. *JAMA* 1993; **70**:1826-1831.
11. Appelbaum P C. Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Infect Dis* 1992; **5**:77-83.
12. Bruyn G A W, Zegers B J M, van Furth R. Mechanisms of host defense against infection with *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Infect Dis* 1992; **14**:251-262.
13. Austrian R. The enduring *pneumococcus*: unfinished business and opportunities for the future. *Microb Drug Resist* 1997; **3**:111-115.
14. Black S B, Shinefield H R, Hansen J, Elvin L, Laufer D, Malinoski F. Post licensure evaluation of the effectiveness of seven valent pneumococcal conjugate vaccine. *J Pediatr Infect Dis* 2001; **20**:1105-1107.
15. Coffey T J, Dowson C G, Daniels M, Zhou J, Martin C, Spratt B G, *et al.* Horizontal transfer of multiple penicillin-binding protein genes, and capsular biosynthetic genes, in natural populations of *Streptococcus pneumoniae*. *Mol Microbiol* 1991; **5**: 2255-2260.
16. Klein J O. The epidemiology of pneumococcal disease in infants and children. *Rev Infect Dis* 1981; **3**: 246- 253
17. Sniadack D H, Schwartz B, Lipman H, Bogaerts J, Butler J C, Dagan R, *et al.* Potential intervention for the prevention of childhood pneumonia: geographic and temporal differences in serotype and serogroup distribution of sterile site pneumococcal isolates from children implications for vaccine strategies. *J Pediatr Infect Dis* 1995; **14**: 503- 510.
18. Henrichsen J. Six newly recognized types of *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1995; **33**: 2759- 2762.
19. Bernard B, McEllistrem M C, Gertz E R, Wedel S, Boxrud J D, Gonzalez L A, *et al.* Pre- and Post vaccination Clonal Compositions of Invasive Pneumococcal Serotypes for isolates collected in the United States in 1999, 2001, and 2002. *J Clin Microbiol* 2006; **44** (3): 999-1017 .
20. Arai S, Konda T, Wada A, Mastunga Y, Okabe N, Watanabe H, *et al.* Use of antiserum-coated latex particle for serotyping *Streptococcus pneumoniae*. *Microbial Immunol* , 2001; **45**: 159- 162.
21. Garenne M, Ronsmans C, and Campbell H. The magnitude of mortality from acute respiratory infections in children under 5 years in developing countries. *World Health Stat Q* 1992; **45**:180-191.
22. Shah AS, Knoll MD, Sharma PR, Moisi JC, Kulkarni P, Lalitha MK, *et al.* Invasive pneumococcal disease in Kanti Children's Hospital, Nepal, as observed by the South Asian Pneumococcal Alliance network. *Clin Infect Dis* 2009; **48**(Suppl 2):S123-S128.
23. Rodgers GL, Mercado G, Bierschwale H, Paradiso P. Comment on "Serotypes and susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from children in Mexico". *Salud Publica Mex* 2009; **51**(1): 4.
24. Antonio M, Oluwalana C, Secka O, Corrah T, Howie S, Adegbola RA. Exogenous re-infection by a novel *Streptococcus pneumoniae* serotype 14 as a cause of recurrent meningitis in a child from The Gambia. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2009; **20**; 8:3. available in <http://www.ann-clinmicrob.com/content/8/1/3>
25. Song JH, Baek JY, Cheong HS, Chung DR, Peck KR, Ko KS. Changes of serotype and genotype in *Streptococcus pneumoniae* isolates from a Korean hospital in 2007. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; **63**(3):271-278.