

عفونت *Bordetella pertussis* در بالغین جوان

رویا شرکت* MD، حسن صالحی MD، رحمتا... یزدانی MD، مهدی تیموری MD، محمد متین فر MD، پریسا شعاعی MSc، اکبر حسن زاده MSc، بهنود هدایت پور MD، سودابه رستمی MSc

آدرس مکاتبه: مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
sherkat@med.mui.ac.ir

تاریخ اعلام قبولی مقاله: ۱۳۸۷/۹/۲۰

تاریخ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۶/۱۱/۹

تاریخ اعلام وصول: ۱۳۸۶/۴/۲۷

چکیده

اهداف. در طول دهه اخیر تغییرات بسیاری در روند بیماری سیاه‌سرفه اتفاق افتاده است. عفونت با *Bordetella pertussis* در حال حاضر بین بالغین جوان و بالغین بیشتر گزارش می‌شود و این افراد را به عنوان منبعی برای کودکان مستعد مطرح نموده است.

روش‌ها. در مطالعه‌ای شاهد-موردی، ۵۰ نفر از بیماران بالای ۱۸ سال مبتلا به سرفه طول‌کشیده بیش از دو هفته با ۵۰ نفر افراد گروه کنترل، از نظر ابتلا به سیاه‌سرفه مقایسه شدند. روش‌های تشخیصی به‌کاررفته، کشت از نازوفارنکس و تعیین تیتراژ علیه *B. pertussis* به‌وسیله روش ELISA بود.

یافته‌ها. تیتراژ آنتی‌بادی علیه *B. pertussis* در زمان مراجعه در ۴۸٪ گروه آزمون مثبت بود اما در گروه کنترل ۱۲٪ مثبت گزارش شد ($p < 0.001$). در گروه آزمون، افزایش میانگین تیتراژ آنتی‌بادی بعد از دو هفته از زمان مراجعه در مقایسه با زمان مراجعه معنی‌دار بود ($p = 0.04$). کشت نازوفارنکس در گروه آزمون ۲٪ مثبت گزارش شد و در گروه شاهد همه نمونه‌ها منفی بودند.

نتیجه‌گیری. ایمنی در مقابل عفونت *B. pertussis* برای تمام عمر نیست. به نظر می‌آید تا زمانی که سیاه‌سرفه در بالغین توسط واکسیناسیون همگانی با واکسن فارغ از سلول پیشگیری نشده است، باید در برخورد با بیمار با سابقه سرفه بیش از دو تا سه هفته، این عفونت مورد توجه قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: سیاه‌سرفه، *Bordetella pertussis*، سرفه مزمن

مقدمه

تشخیص سیاه‌سرفه در بیماران خاص مانند بزرگسالان و افرادی که به تازگی واکسن دریافت کرده‌اند یا کشت منفی داشته‌اند مفید است [۱۳، ۱۲]. حساسیت روش ELISA در کشف آنتی‌بادی *B. pertussis* با توجه به نوع کیت به کاررفته بین ۶۰ تا ۹۵٪، حساسیت روش‌های کشت، PCR و DFA به ترتیب ۱۵/۲، ۱۰۰ و ۹۳/۵٪ و ویژگی این روش‌ها به ترتیب ۹۷/۱، ۵۲/۲ و ۹۸/۲٪ است [۱۴]. به علت کاهش توانایی جداسازی ارگانیزم به واسطه روش کشت طی پیشرفت بیماری، این روش محدودیت‌هایی از نظر حساسیت و ویژگی دارد؛ لذا در مطالعه حاضر بررسی فراوانی نسبی عفونت *B. pertussis* در افراد بزرگسال مبتلا به سرفه طولانی‌مدت و مقایسه آن با گروه شاهد فاقد سرفه مزمن به وسیله روش کشت و ELISA انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش مطالعه‌ای شاهدهی-موردی است. جمعیت هدف، بزرگسالان مراجعه‌کننده به کلینیک‌های آلرژی، ریه و بیماری‌های عفونی بیمارستان الزهرا و سایر مراکز درمانی دانشگاه اصفهان در سال ۱۳۸۲ با سرفه طولانی‌مدت بیش از دو هفته بودند. گروه شاهد از میان جمعیت فاقد سرفه و هم‌سان از نظر سن و جنس با افراد مبتلا به سرفه از میان مراجعه‌کنندگان به کلینیک‌های تخصصی ارتوپدی و ... انتخاب شدند. معیارهای ورود به مطالعه داشتن سن بالای ۱۸ سال، نداشتن سابقه ابتلا به بیماری‌های مزمن ریوی مانند آسم، COPD و...، داشتن سرفه طولانی‌مدت بیش از ۲ هفته و کمتر از ۱۲ هفته و در نهایت رضایت برای شرکت در مطالعه بودند. روش نمونه‌گیری به صورت آسان و متوالی بود. به طوری که مراجعین بر حسب دارا بودن معیارهای ورود به مطالعه وارد مطالعه شدند. حجم نمونه موردنیاز برای شرکت در این مطالعه با توجه به شکل مطالعه و نوع فرضیات و در نظر گرفتن احتمال عفونت سیاه‌سرفه در افراد مبتلا به سرفه طولانی‌مدت در حد ۳۰٪ و با در نظر گرفتن حداقل نسبت شانس قابل قبول ۲، پنجاه نفر در گروه مورد و ۵۰ نفر در گروه شاهد در نظر گرفته شد [۱۵]. پس از انتخاب افراد بر اساس معیارهای ورود و پس از کسب رضایت‌نامه کتبی از آنان، فرد مورد مصاحبه قرار گرفت و فرم اطلاعاتی تکمیل شد. از افراد بیمار و شاهد ۵CC خون تهیه شد و پس از انتقال به آزمایشگاه، سرم خون به وسیله سانتریفوژ جدا و در دمای 70°C - نگهداری شد. به افراد گروه مورد (دارای سرفه مزمن) جهت بررسی از نظر افزایش ۴ برابر تیتراژ آنتی‌بادی به عنوان روش تشخیصی ابتلای به *Bordetella pertussis* بر گه آموزش و ویزیت رایگان برای نمونه‌گیری دو هفته بعد ارائه شد. در صورت عدم مراجعه حضوری، علت تلفنی پیگیری شد. افراد گروه شاهد نیازی به مراجعه دو هفته بعد نداشتند. سرم‌های جمع‌آوری شده، پس از تکمیل تمام موارد از فریزر خارج شده و با استفاده از روش ELISA، وجود آنتی‌بادی IgG علیه *Bordetella pertussis* در آنها

سیاه‌سرفه عفونت حاد و قابل انتقال دستگاه تنفسی است که توسط باکتری گرم منفی *Bordetella pertussis* ایجاد می‌شود [۱]. این بیماری به شدت واگیردار و از عفونت‌های دوران کودکی است که خصوصاً در کودکان کمتر از شش ماه منجر به مرگ می‌شود [۲]. طی چندین سال، تغییرات بسیاری در روند بیماری سیاه‌سرفه اتفاق افتاده است. با توسعه برنامه‌های گسترده واکسیناسیون و ایمن‌سازی کودکان در برابر سیاه‌سرفه، این بیماری در کودکان کاهش چشمگیری داشته است [۳]. اگرچه واکسن سلول کامل (Whole Cell) به طور واضحی باعث کاهش شیوع بیماری شده ولی در عین حال باعث تغییر در گروه سنی بروز این بیماری نیز گردیده است. چون ایمنی حاصل از واکسن سلول کامل دوره محدودی دارد (کمتر از ۱۲ سال) کودکانی که ایمن شده‌اند، کاملاً از بیماری مصون هستند ولی افراد بالغ یا اصلاً نسبت به بیماری ایمنی ندارند یا ایمنی آنها بسیار کم است [۴]. بالغین علامت‌دار، اغلب به عنوان منبع انتقال عفونت به کودکان شناخته می‌شوند [۵]. به طوری که اگرچه هنوز هم در برخی مناطق نیمی از موارد سیاه‌سرفه در کودکان زیر یک سال گزارش می‌گردد ولی در بررسی این کودکان، غالباً بزرگسال علامت‌داری در خانواده یا اطرافیان عامل انتقال عفونت بوده است [۶]. سیر بالینی عفونت در بزرگسالان با کودکان تفاوت دارد و می‌تواند به صورت سرماخوردگی توأم با سرفه‌های طولانی‌مدت و غیرخلط‌دار حمله‌ای بروز کند [۷]. بیماری سیاه‌سرفه در بالغین، نسبت به بالغین جوان کمتر تشخیص داده می‌شود؛ با این وجود در بیش از ۲۰٪ موارد سرفه‌های طولانی‌مدت مشاهده شده است [۸]. از طرفی، نیمی از موارد گزارش شده سیاه‌سرفه توسط CDC آمریکا، شیرخواران زیر یک سال را شامل می‌شود و زمانی که این موارد بررسی شدند، بالغین علامت‌دار به عنوان منبع انتقال عفونت شناسایی شدند [۹]. با استفاده از تکنیک‌های سرولوژیک و سایر روش‌های تشخیصی برای شناسایی افرادی که به تازگی در معرض عامل عفونی *B. pertussis* بوده‌اند مشخص شده است که ۲۰ تا ۳۰٪ بزرگسالانی که دچار سرفه‌های طولانی‌مدت (دو یا سه هفته یا بیشتر) هستند ممکن است مبتلا به سیاه‌سرفه باشند [۱۰]. ۵۲٪ بالغین مبتلا به عفونت *B. pertussis* سرفه بیش از ۴ هفته و ۷۸٪ سرفه‌های حمله‌ای را تجربه کرده بودند [۱۱]. راه‌های گوناگونی برای تشخیص میکروارگانیزم مولد یا شاخص‌های ایمونولوژیک عفونت وجود دارند. کشت، PCR، استفاده از آنتی‌بادی فلورسنت مستقیم به منظور یافتن میکروارگانیزم (DFA) و ELISA از راه‌های تشخیص هستند [۲]. آنتی‌بادی‌های IgG و IgA هر دو در پاسخ به عفونت *B. pertussis* تولید می‌شوند و IgG آنتی‌بادی غالب است که بعد از واکسیناسیون تشخیص داده می‌شود [۱۲]. استفاده از روش‌های سرولوژی در تشخیص *B. pertussis* اغلب برای

معنی‌دار نشان نمی‌دهد ($p=0/84$). میانگین سنی افراد گروه شاهد $13/67 \pm 33/02$ و گروه مورد $13/63 \pm 32/74$ سال بود.

جدول ۱) توزیع فراوانی آنتی‌بادی IgG علیه عفونت بوردتلا پرتوزیس به روش ELISA بر حسب تعداد افراد خانواده در دو گروه مورد و شاهد

نوع خانواده	سرولوژی	
	منفی	مشکوک
کم جمعیت (کمتر از ۵ نفر)	۶۴/۷٪	۱۱/۸٪
پر جمعیت (بیش از ۶ نفر)	۵۹/۳٪	۷/۴٪

در جدول ۲، توزیع فراوانی آنتی‌بادی IgG علیه *Bordetella pertussis* به وسیله روش ELISA، بر حسب سن در گروه مورد و شاهد آورده شده است. آزمون همبستگی پیرسون نشان داد که در گروه شاهد، بین سن و تیتراژ آنتی‌بادی رابطه مستقیم ($r=0/24$)، $p=0/04$ و در گروه مورد، رابطه ضعیف معکوس وجود دارد که معنی‌دار نیست ($r=-0/07$)، $p=0/32$.

جدول ۲) توزیع فراوانی آنتی‌بادی IgG علیه عفونت بوردتلا پرتوزیس به روش ELISA بر حسب سن در دو گروه شاهد و مورد

سرولوژی	گروه سنی		
	$25 \geq$	$26 - 40$	$40 <$
منفی	۷۰	۷۶/۵	۶۹
مشکوک	۳۰	۱۷/۶	۹/۳
مثبت	۰	۵/۹	۲۱/۷
منفی	۴۵	۴۷/۱	۵۴/۵
مشکوک	۹/۱	۵/۹	۰
مثبت	۴۵/۵	۴۷/۱	۴۵/۵

*اعداد به درصد است

بحث

در مطالعه حاضر میزان موارد مثبت عفونت *Bordetella pertussis* در گروه مورد بیش از گروه شاهد گزارش شده و این تفاوت معنی‌دار است ($p=0/001$). در بررسی سرولوژیک نوبت دوم گروه مورد، میزان ابتلا سیر صعودی داشته و در ۱۲٪ افراد، افزایش چهار برابری تیتراژ آنتی‌بادی گزارش شده است ($p=0/04$). حتی در ۲۸٪ افراد، تیتراژ آنتی‌بادی بالای $U/ml 1100$ گزارش شد؛ این در حالی است که این مطالعه در افراد بالغ بالاتر از ۱۸ سال انجام شده است. این موضوع نشان می‌دهد که در افراد مبتلا به سرفه طولانی‌مدت ناشی از سیاه‌سرفه، تیتراژ آنتی‌بادی *Bordetella pertussis* با گذشت زمان پس از ابتلا افزایش یافته است که با تعریف WHO و همچنین مطالعات دیگر هم‌خوانی دارد [۱۶]. میزان موارد سرولوژیک منفی در گروه شاهد ۷۲٪ و بیشتر از موارد منفی در گروه مورد

بررسی شد. کیت مورد استفاده ساخت شرکت IBL آلمان بود (*Bordetella pertussis* IgG ELISA Kit). تیتراژ آنتی‌بادی برای هر دو گروه مورد و شاهد محاسبه شد و بر اساس مقادیر ارائه‌شده در راهنمای کیت، تیتراژ کمتر از $U/ml 16$ "منفی"، بین ۱۶ تا $U/ml 24$ "مشکوک" و بیشتر از $U/ml 24$ "مثبت" در نظر گرفته شد. در گروه مورد، هم مقادیر آنتی‌بادی و هم مقادیر افزایش در میزان آنتی‌بادی به فاصله دو هفته ثبت گردید. از نظر کشت برای هر دو گروه شاهد و مورد نمونه‌برداری از نازوفارنکس خلفی با استفاده از سواب‌های استریل انعطاف‌پذیر انجام شد و در محیط Regan-Lowe به آزمایشگاه انتقال یافت و روی محیط Bordet-Gengou کشت داده و در شرایط مناسب برای رشد باکتری قرار داده شد. نتایج به‌دست‌آمده از هر دو روش در فرم‌های اطلاعاتی ثبت و پس از تکمیل فرم‌ها و داده‌ها، اطلاعات به نرم‌افزار SPSS وارد شد. به‌منظور تجزیه و تحلیل اطلاعات از آزمون‌های T مستقل، T زوج‌شده، مجذور کای و همبستگی پیرسون استفاده شد.

نتایج

۲۳ نفر (۴۶٪) از افراد گروه مورد نتیجه منفی، ۳ نفر (۶٪) مشکوک و ۲۴ نفر (۴۸٪) مثبت داشتند. نتایج گروه مورد دو هفته بعد از مراجعه نخست، ۱۵ نفر (۳۰٪) منفی، ۶ نفر (۱۲٪) مشکوک و ۲۹ نفر (۵۸٪) مثبت بود. در گروه شاهد نیز ۳۶ نفر (۷۲٪) منفی، ۸ نفر (۱۶٪) مشکوک و تنها ۶ نفر (۱۲٪) مثبت بودند.

میانگین ژئومتریک تیتراژ آنتی‌بادی *Bordetella pertussis* در گروه شاهد $18/15 \pm 32/41$ ، در گروه مبتلا به سرفه مزمن در نوبت اول $58/84 \pm 70/57$ و در نوبت دوم $74/28 \pm 78/20$ بود. طبق آزمون T مستقل، میانگین تیتراژ آنتی‌بادی *Bordetella pertussis* در زمان مراجعه در گروه مورد بیشتر از گروه شاهد بود و آزمون T زوج‌شده نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار میانگین تیتراژ آنتی‌بادی پس از دو هفته در گروه مورد بود ($p=0/04$). لازم به توضیح است که در ۱۲٪ افراد گروه مورد، تیتراژ آنتی‌بادی *Bordetella pertussis* افزایش چهار برابری داشت و در ۲۸٪ افراد، تیتراژ آنتی‌بادی بالای $U/ml 1100$ گزارش شد.

یک نفر (۲٪) از بیماران مبتلا به سرفه مزمن کشت مثبت داشت و سایر موارد (۹۸٪) منفی گزارش شدند. در گروه شاهد هیچ کشت مثبتی به‌دست نیامد. یک مورد مبتلا، از نظر تعداد افراد خانوار در گروه پرجمعیت (بیش از ۶ نفر) و از نظر گروه سنی در گروه ۲۶-۴۰ سال قرار داشت. میانگین تعداد افراد خانواده در گروه شاهد $5/04 \pm 1/73$ و در گروه مورد $4/55 \pm 2/31$ بود. در جدول ۱، توزیع فراوانی آنتی‌بادی IgG علیه *Bordetella pertussis* به وسیله روش ELISA بر حسب تعداد خانوار در دو گروه مورد و شاهد آورده شده است. با اینکه در خانواده‌های پرجمعیت میزان ابتلا بیش از خانواده‌های کم‌جمعیت است، ولی آزمون مجذور کای این اختلاف را

منابع

- 1- Bjorstad ON, Harvill ET. Evaluation and emergence of Bordetella in humans. Trends Microbiol. 2005;13(8):355-9.
- 2- Byrd E, Ohl CA. Clinical features and diagnosis of *Bordetella pertussis* infection in adolescents and adults. Available from: <http://www.uptodate.com>
- 3- Aoyama T, Takeuchi Y, Goto A. Pertussis in adults. AJDC. 1992;146(2):163-6.
- 4- Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Participle and practice of infectious diseases. 6th ed. Philadelphia; 2005. p. 2701.
- 5- Chodorowska M, Kuklinska D. Whooping cough in adolescents and adults. Prezegl Epidemiol. 2001;55(1-2):189-95.
- 6- Mink CA, Cherry JD, Christenson P. A search for Bordetella pertussis infection in university students. Clin Infect Dis. 1992;(14):461-62.
- 7- Cherry JD. Pertussis in adults. Annual of internal medicine. 1998;128(1):64-65.
- 8- De Serres G, Shadmani R, Daval B. Morbidity of pertussis in adolescents and adults. J Infect Dis. 2000;(182):174-9.
- 9- Halperin SA. Pertussis; A disease and vaccine for all age. N Engl J Med. 2005;353(15):1615-7.
- 10- Von koing CH, Halperin S, Riffelmann M, Guison. Pertussis of adults and infants. Lancet infect Dis. 2002;(2):744-50.
- 11- Yih WK, Lett SM, Desvignes FN. The increasing incidence of Pertussis in Massachusetts adolescents and adults; 1989-1998. J Infect Dis. 2000;182(5):1409-12.
- 12- Muller FM, Hoppe JE, Wirsing Von Koing CH. Laboratory diagnosis of Pertussis: State of the art in 1997. J Clin Microbiol. 1997;(35):2435.
- 13- Birkebaek NH. *Bordetella Pertussis* in the aetiology of chronic cough in adults; Diagnostic methods and clinic. Dan Med Bull 2001;(48):77.
- 14- Kusters K, Riffelmann M, Dohrn B. Comparison of five commercial enzyme-linked Immunosorbent assays for detection of Antibodies to *Bordetella Pertussis*. Clinical and diagnostic Laboratory Immunology. 2000;7(3):422-26.
- 15- Cherry JD. Epidemiological and laboratory aspects of Pertussis in adults. Clin Infect Dis. 1999;28(Suppl2):511-7.
- 16- Trollfors B, Knutsson N, Taranger J, Mark A, Bergfors, et al. Diphtheria, Tetanus and Pertussis antibodies in 10-years-old children before and after a booster dose of three toxoids implications for the timing of a booster dose. Eur J pediatr. 2006;165(1):14-8.
- 17- Strebel P, Nordin J, Edwards K. Population-based incidence of Pertussis among adolescents and adults, Minnesota, 1995- 1996. J Infect Dis. 2001;(183):1353.

گزارش شد که با مطالعات دیگر که کاهش سریع آنتی‌بادی پس از واکسیناسیون، خصوصا با گذشت زمان را نشان می‌دهد مطابقت دارد. این تعداد، نماینده میزان ایمنی در افراد بالغ است (تنها در ۱۲٪ گروه شاهد نتیجه مثبت بوده است).

در مورد استفاده از کشت برای تشخیص *Bordetella pertussis* مطالعات متعددی صورت گرفته است. در این مطالعات مشخص شد که حساسیت کشت از ترشحات نازوفارنکس، خصوصا در افرادی که قبلا واکسینه شده‌اند یا آنتی‌بیوتیک دریافت کرده‌اند یا کشت ابتدای بیماری ایشان تهیه نشده، کم است [۱۷]. در این بررسی نیز، تنها ۲٪ بیماران مبتلا به سرفه مزمن کشت مثبت داشتند. بنابراین نمی‌توان قضاوتی در مورد این آزمون تشخیصی انجام داد؛ پیشنهاد می‌گردد در مطالعات بعدی از تست‌های تشخیصی اختصاصی‌تری همچون PCR استفاده گردد. همان‌طور که در جدول ۱ عنوان شد، میزان ابتلا به سیاه‌سرفه با افزایش تعداد افراد خانوار، بیشتر شده است (البته افزایش معنی‌دار نبود). از آنجا که انتقال عفونت بیشتر از طریق تنفسی و ذرات آلوده هوا است، به‌نظر می‌رسد که انتقال در محیط‌های شلوغ و پرجمعیت بیشتر صورت می‌گیرد و میزان ابتلا به عفونت در این محیط‌ها افزایش می‌یابد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از سرولوژی در این مطالعه، به‌نظر می‌رسد تا زمانی که سیاه‌سرفه در بالغین به‌وسیله واکسیناسیون همگانی با استفاده از واکسن فارغ از سلول پیشگیری نشده است، پزشکان باید در برخورد با بیمار مبتلا به سرفه طولانی‌مدت بیش از دو تا سه هفته، وجود عفونت *Bordetella pertussis* را مورد توجه قرار دهند و برای درمان آن اقدامات سریع صورت گیرد. همچنین با توجه به اینکه این گروه سنی می‌تواند به‌عنوان منبع انتقال عفونت به شیرخواران محسوب شود، باید واکسیناسیون گسترده بالغین با واکسن فارغ از سلول مورد توجه مراکز بهداشتی- درمانی قرار گیرد.