Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:27 +0430 on Wednesday September 20th 2017

ORIGINAL ARTICLE

Isolation of Bordetella Pertussis and Bordetella Parapertussis of Clinical Specimens from Different Provinces of Iran

Fereshteh Shahcheraghi[1],
Masoumeh Nakhost Lotfi[1],
Masoumeh Parzadeh[1],
Vajihe Sadat Nikbin[1],
Fahimeh Shouraj[1],
Seyed Mohsen Zahraei[2]

[1] Department of Infection Diseases, Center for Diseases Control Ministiry of Health, Tehran, Iran
[2] Department of Infection Diseases, Center for Communicable Diseases Control Ministiry of Health and Medical Education, Tehran, Iran

(Received October 30, 2011 ; Accepted April 10, 2012)

Abstract

Background and purpose: Bordetella pertussis is a gram negative and obligate aerobic bacteria that is cause of whooping cough and is exclusively a human pathogen. In the last decade increasing rate of pertussis was observed. Despite the importance of pertussis as a contagious disease enough information does not exist regarding its incidence rate in Iran. In this research pertussis suspicious specimens were collected from different provinces of Iran in 2009-2010 and then were studied.

Materials and methods: A total of 1084 sample from nasopharyngeal secretion or nasal of patients with coughing more than two weeks were collected from different provinces of Iran and were sent to microbiology unit of pertussis reference laboratory in Pasteur institute of Iran. The isolation was done through culturing method. All samples were inoculated through swab on pertussis charcoal agar and Bordet-Gengou plates containing (40 µg/ml) cephalexin antibiotic and once without it. Then the suspected colonies were gram stained and complementary tests was done if colonies were identified as B. pertussis, B. parapertussis.

Results: From the total of 1084 samples 12 inoculated samples were positive (1.1%) of which 11 samples were B. pertussis and one sample was B. parapertussis. Among positive cultures, three cases were the patients who were below 2 months, six cases related to individuals from two months to two years of age, two cases related to those aged between two and 10 years old and one patient was over 10 years of age. Nine cases of positive culture specimens were vaccinated and seven cases were the patients who used antibiotics.

Conclusion: Results of this study indicated that most isolated strains in Iran were related to those aged between two months to two years old. According to clinical and paraclinical problems regarding whooping cough in Iran and also low sensitivity of culturing method to diagnose Bordotella, complementary methods such as Real-Time PCR should be used.

Keywords: Bordetella pertussis, bordetella parapertussis, culture

J Mazand Univ Med Sci 2012; 22(88): 2-8 (Persian).

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:27 +0430 on Wednesday September 20th 2017

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و دوم شماره ۸۸ اردیبهشت سال ۱۳۹۱ (۸-۲)

جداسازی بوردتلاپرتوسیس و پاراپرتوسیس از نمونه‌های بالینی جمع‌آوری شده از سراسر ایران

فرشته شاهچراغی[۱]
معصومه نخست لطفی[۱]
معصومه پرزده[۱]
وجیهه سادات نیک بین[۱]
فهیمه شورج[۱]
سید محسن زهرایی[۲]

چکیده

سابقه و هدف: بوردتلاپرتوسیس باکتری گرم منفی و هوازی اجباری است که عامل بیماری سیاه‌سرفه به‌شمار رفته و پاتوژن انحصاری انسان می‌باشد. در دهه اخیر شاهد افزایش میزان بیماری در دنیا می‌باشیم. علی‌رغم اهمیت این بیماری و شیوع و انتشار سریع آن اطلاعات اندکی از میزان بروز این بیماری در کشورمان در دسترس می‌باشد. لذا در این تحقیق نمونه‌های بالینی مشکوک به سیاه سرفه از سراسر کشور طی سال‌های ۸۸ و ۸۹ مورد بررسی و مطالعه قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها: تعداد ۱۰۸۴ نمونه از نازوفارنکس و نازال بیماران مشکوک به سیاه سرفه (بیماران با بیش از دو هفته سرفه مداوم) از استان‌های مختلف کشور به آزمایشگاه کشوری سیاه‌سرفه بخش میکروب‌شناسی انستیتو پاستور ایران ارسال شد. در این مطالعه جهت جداسازی نمونه‌ها از روش کشت استفاده گردید. نمونه‌ها توسط سوآپ بر روی محیط‌های برده ژآنگو و شارکول آگار حاوی آنتی‌بیوتیک سفالکسین (۴۰ μg/ml) و بدون سفالکسین کشت داده شد و از کلنی‌های مشکوک رنگ‌آمیزی گرم انجام شد. با مشاهده کوکوباسیل گرم منفی، آزمایش‌های تکمیلی بر روی آن‌ها انجام گرفت.

یافته‌ها: از تعداد ۱۰۸۴ مورد، ۱۲ نمونه کشت مثبت بوده‌اند (۱/۱ درصد) که ۱۱ مورد بوردتلاپرتوسیس و ۱ عدد بوردتلاپاراپرتوسیس بود. از این تعداد نمونه کشت مثبت، ۳ مورد مربوط به افراد زیر ۲ ماه، ۶ مورد مربوط به افراد ۲ ماه تا ۲ سال، ۲ مورد مربوط به گروه سنی ۲ تا ۱۰ سال و ۱ مورد بالای ۱۰ سال بودند. ۹ مورد مثبت مربوط به افرادی بوده اند که سابقه تزریق واکسن هم داشته‌اند. از ۱۲ نفر کشت مثبت ۷ نفر نیز مصرف آنتی‌بیوتیک داشته‌اند.

استنتاج: نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که بیشتر سویه‌های جدا شده در ایران مربوط به گروه سنی ۲ ماه تا ۲ سال می‌باشد. با توجه به مشکلات کلینیکی و پاراکلینیکی مربوط به بیماری سیاه‌سرفه در کشور و همچنین حساسیت پایین روش کشت برای تشخیص بوردتلا می‌بایستی از روش‌های تکمیلی دیگر مانند روش Real-Time PCR استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: بوردتلا پرتوسیس، بوردتلا پاراپرتوسیس، کشت

مقدمه

بوردتلاپرتوسیس باکتری گرم منفی و هوازی اجباری است که عامل بیماری سیاه‌سرفه به‌شمار رفته و پاتوژن انحصاری انسان می‌باشد. علائم مشابه این بیماری گاهاً توسط بوردتلاپاراپرتوسیس و به میزان کمتر توسط

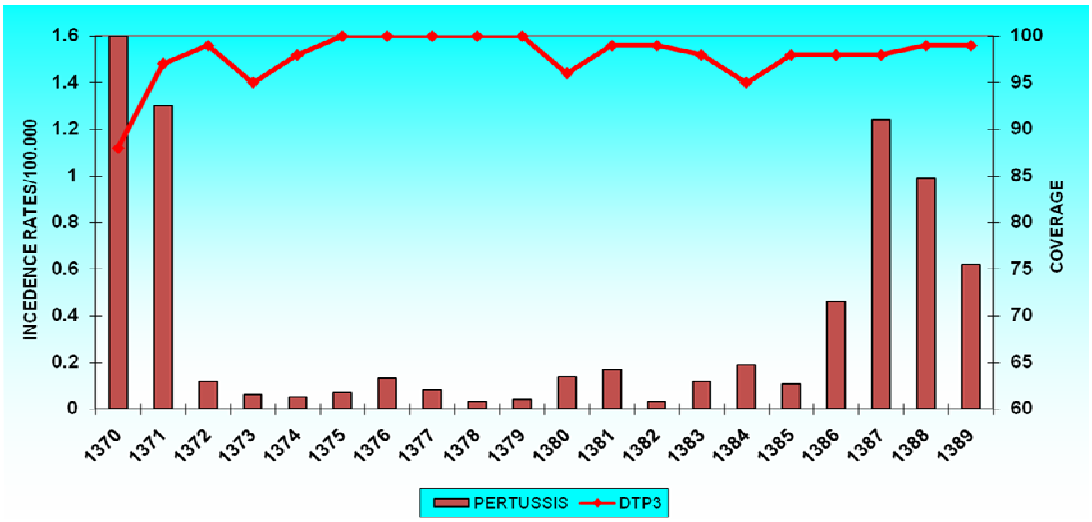
مولف مسئول: فرشته شاهچراغی- تهران: میدان پاستور، انستیتو پاستور ایران، مرکز تحقیقات میکروب شناسی E-mail: shahcheraghifereshteh@yahoo.com
۱. گروه میکروب شناسی ، مرکز تحقیقات میکروب شناسی، انستیتو پاستور ایران
۲. گروه عفونی، مرکز کنترل بیماری های واگیر وزارت بهداشت ودرمان و آموزش پزشکی
تاریخ دریافت : ۹۰/۸/۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۹۰/۱۱/۳ تاریخ تصویب : ۹۱/۱/۲۲

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:27 +0430 on Wednesday September 20th 2017

بوردتلابرونشی سپتیکا نیز ایجاد می‌گردد. البته این علائم در عفونت ناشی از بوردتلاپرتوسیس شدیدتر از سایر گونه‌های بوردتلا می‌باشد(۱،۲). در کشورهای توسعه‌یافته از جمله آمریکا، فرانسه، کانادا و استرالیا به دلیل اجرای برنامه‌های مراقبت طولانی و منظم و استفاده فراگیر از واکسن سیاه‌سرفه میزان شیوع بیماری کاهش چشم‌گیری یافته است. اما در دهه اخیر شاهد افزایش میزان بیماری می‌باشیم که نشان می‌دهد این بیماری جزء بیماری‌های بازپدید در سراسر دنیا می‌باشد(۵-۳). در آمریکا در دهه ۸۰ میلادی میزان شیوع این بیماری ۶۳/۴ درصد و در دهه ۹۰ میلادی میزان شیوع آن ۸۸/۷ درصد و از ۲۰۰۱ تا ۲۰۰۳ بالاترین میزان شیوع ۹۸/۲ درصد را در نوزادان زیر ۶ ماه داشته که در مقایسه با نوزادان ۶ تا ۱۱ ماهه که ۱۲/۳ درصد بود، چشم‌گیرتر است(۶). دلایل متعددی برای این روند افزایش در کشورهای توسعه یافته می‌تواند وجود داشته باشد از جمله: کاهش ایمنی بدن پس از واکسیناسیون با گذشت زمان، نقص در انجام کامل واکسیناسیون، منبع عفونت برای نوزادان، منبع عفونت برای بزرگسالان، وجود سوش‌های پلی‌مورفیسم بر اثر جهش‌های ژنی در آنتی ژن‌های مرتبط با واکسن و یا عدم کارآیی واکسن. همچنین پیشرفت در تشخیص و شناسایی و گزارش موارد عفونت، از جمله علل دیگر این روند به شمار می‌رود(۵).

براساس گزارشات ارائه شده از مرکز مدیریت بیماری‌ها در ایران (آمار منتشر نشده)، آمار میزان بیماری با وجود پوشش واکسیناسیون حدود ۹۹ درصد در سال‌های اخیر، افزایش یافته که می‌تواند ناشی از دلایل فوق باشد. همان‌طور که در نمودار شماره ۱ مشاهده می‌شود از سال ۱۳۷۰ تا ۱۳۸۵ شاهد کاهش موارد محتمل بیماری می‌باشیم در حالی‌که از سال ۱۳۸۶ این روند در کشور افزایش یافته است.

متأسفانه علی‌رغم اهمیت این بیماری به لحاظ مسری بودن و محدودیت در تشخیص آزمایشگاهی در کشور، اطلاعات بسیاراندکی از میزان بروز آن در ایران در دسترس می‌باشد و مطالعات در رابطه با آن بسیار کم و محدود است. خوشبختانه در سال‌های اخیر با همکاری مرکز مدیریت بیماری‌ها وانستیتو پاستور ایران به عنوان آزمایشگاه کشوری سیاه‌سرفه، تشخیص آزمایشگاهی این بیماری پیشرفت چشم‌گیری داشته است. لذا بر آن شدیم تا گزارشی از نتایج آزمایشگاهی نمونه‌های ارسالی در سال‌های اخیر ارائه نماییم. در این تحقیق نمونه‌های بالینی مشکوک به سیاه‌سرفه از سراسر کشور طی سال‌های ۸۸ و ۸۹ جمع‌آوری، مورد بررسی و مطالعه قرار گرفتند.



نمودار شماره ۱: موارد محتمل سیاه سرفه و پوشش واکسیناسیون از سال ۱۳۷۰ تا ۱۳۹۰ در کشور

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:27 +0430 on Wednesday September 20th 2017

مواد و روش‌ها

در این بررسی مقطعی تعداد ۱۰۸۴ نمونه از نازوفارنکس و نازال بیماران مشکوک به سیاه‌سرفه (بیماران با بیش از دو هفته سرفه مداوم) از استان‌های مختلف کشور به آزمایشگاه کشوری سیاه سرفه بخش میکروب‌شناسی انستیتو پاستور ایران ارسال شد.

نمونه‌گیری و ارسال نمونه‌ها طبق دستورالعمل ارسال شده به مراکز صورت می‌گرفت که این شرایط شامل استفاده از سوآپ داکرون به جای سوآپ پنبه‌ای (به علت توکسیک بودن سوآپ پنبه‌ای برای باکتری)، استفاده از محیط ترانسپورت رگان‌لو مخصوص بوردتلا (تهیه شده توسط محیط‌سازی بخش میکروب‌شناسی انستیتو پاستور ایران طبق روش ساخت شرکت Difco)، ایجاد رطوبت برای نمونه ارسالی (به علت حساسیت فوق‌العاده باکتری به خشکی)، نمونه‌برداری از ترشحات نازوفارنکس(بینی- حلقی) و در شرایط خاص ترشحات نازال (بینی) و ارسال به آزمایشگاه در حداقل زمان ممکن و حداکثر ۷۲ ساعت بود(۸،۷). به همراه نمونه فرم شرح بیمار که شامل اطلاعاتی از قبیل (نام بیمار، سن، تاریخ شروع بیماری، تاریخ نمونه‌گیری از بیمار، موضع نمونه‌برداری، سابقه واکسیناسیون و مصرف آنتی‌بیوتیک، سابقه تماس بیمار با فرد مشکوک به سیاه سرفه و همچنین نام استان و مرکز بهداشت ارسال کننده نمونه) می‌باشد نیز ارسال شده است. در این مطالعه جهت جداسازی نمونه‌ها از روش کشت که استاندارد طلایی برای تشخیص این باکتری می‌باشد استفاده شد(۱۰،۹). در ابتدا نمونه‌ها توسط سوآپ داکرون حاوی ترشحات نازوفارنکس بر روی محیط‌های برده ژآنگو و شارکول آگار حاوی آنتی‌بیوتیک سفالکسین (۴۰μg/ml) (۱۱،۱۰،۸) و بدون سفالکسین کشت داده و به مدت ۱۰ تا ۱۲ روز در دمای ۳۶ °C در محیط مرطوب انکوبه شد.

بعد از گذشت ۲۴ ساعت اولیه، روزانه کشت‌ها مورد بررسی قرار گرفتند بدین‌گونه که از کلنی‌های مشکوک لام تهیه و پس از فیکس کردن و رنگ آمیزی گرم و مشاهده کوکوباسیل‌های گرم منفی آزمایش‌های تکمیلی بر روی آن‌ها انجام گرفت. بر روی نمونه‌ها آزمایش اکسیداز (شرکت MAST)، کاتالاز، حرکت، استفاده از سیترات، اوره و آزمایش‌های تکمیلی مانند انواع قندها و اسیدهای آمینه با استفاده از کیت API20E و برای تأیید نهایی از آزمایش آگلوتیناسیون توسط آنتی‌سرم‌های بوردتلاپرتوسیس و پاراپرتوسیس (Diffco) انجام شد(۱۰). در تمامی مراحل آزمایش از سویه‌های Bordetella pertussis ATCC 9797 و Bodetella Parapertussis ATCC 15311 به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

مهم‌ترین تفاوت گونه بوردتلاپرتوسیس و پاراپرتوسیس در آزمایش اکسیداز می‌باشد که پاراپرتوسیس اکسیداز منفی است. همچنین این باکتری نسبت به بوردتلاپرتوسیس دارای کلنی‌های درشت‌تر و پیگمان می‌باشد و همچنین دارای آنزیم اوره‌آز بوده و نیز می‌تواند از سیترات به عنوان منبع کربن استفاده نماید(۱۰). اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون Chi-Square مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

کل نمونه‌های ارسالی به آزمایشگاه کشوری سیاه‌سرفه انستیتو پاستور ایران طی سال‌های ۸۸ و ۸۹ از سراسر ایران ۱۰۸۴ نمونه بود. از این تعداد ۱۲ نمونه کشت مثبت بوده‌اند (۱/۱ درصد) که ۱۱ مورد بوردتلاپرتوسیس و ۱ مورد بوردتلاپاراپرتوسیس بود. از نظر سنی از این تعداد نمونه کشت مثبت، ۸ مورد مربوط به افراد زیر ۲ سال و ۳ مورد مربوط به افراد ۲ تا ۱۰ ساله و ۱ مورد مربوط به سن بالای ۱۰ سال می‌باشد. سویه بوردتلا پاراپرتوسیس از بیماری در گروه سنی ۲ تا ۱۰ سال جدا شد.

با وجود برنامه واکسیناسیون سیاه سرفه در ایران در سنین ۲، ۴، ۶ و ۱۸ ماهگی و۶ سالگی، از نظر سابقه واکسیناسیون ۳ نمونه کشت مثبت مربوط به گروه زیر ۲ ماه ،۶ نمونه مثبت مربوط به گروه ۲ ماه تا ۲ سال،

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:27 +0430 on Wednesday September 20th 2017

۲ نمونه مثبت مربوط به گروه ۲ تا ۱۰ ساله و ۱ نمونه مربوط به گروه سنی ۱۰ سال به بالا بود (جدول شماره ۱). نتایج آماری به دست آمده نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین میزان موارد کشت مثبت و واکسیناسیون افراد وجود ندارد (p>۰/۰۵).

نمونه‌های مثبت طبق جدول شماره ۲ از استان‌های مازندران، خراسان رضوی، تهران، آذربایجان شرقی، اصفهان و خوزستان جدا شدند و توزیع جنسی نمونه‌ها در جدول مذکور ذکر شده است. قابل ذکر می‌باشد که در میان نمونه‌های ارسالی اشکالاتی نیز وجود داشته از قبیل استفاده از سوآپ پنبه‌ای بجای سوآپ داکرون (۶/۲ درصد)، مصرف آنتی بیوتیک قبل از گرفتن نمونه ۵۳/۷ درصد (جدول شماره ۳) ارسال نمونه در فاصله زمانی بیش از ۷۲ ساعت (۰/۷ درصد)، استفاده از محیط‌های متفرقه به‌جای رگان‌لو (۲/۸)، به‌جز موارد ذکر شده اشکالات دیگری نیز همچون استفاده از محیط تاریخ مصرف گذشته و یا ارسال نمونه بدون فرم و... وجود داشت (جدول شماره ۴).

جدول شماره ۱: اطلاعات مربوط به واکسیناسیون و سن و رابطه آن‌ها با مواردکشت مثبت در نمونه های ارسالی مشکوک به سیاه سرفه

	گروه سنی (انجام واکسیناسیون)				
	زیر ۲ماه	۲ ماه تا ۲ سال	۲ تا ۱۰ سال	بالای ۱۰سال	نامشخص
کل نمونه (۱۰۸۴ مورد)	۱۵۲	۵۸۶ (۴۸۷)	۱۵۷ (۱۴۳)	۱۱۱ (۶۳)	۷۸ (۸۹)
کشت مثبت (۱۲ مورد)	۳ (۰)	۶ (۵)	۲ (۲)	۱ (۱)	. (۰)

جدول شماره ۲: مقایسه نمونه های کشت مثبت از بیماران مشکوک به سیاه سرفه در سال های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ از نظر محل و جنس

استان ارسالی	تعداد کشت مثبت	مونث	مذکر
مازندران	۳	-	۳
خراسان رضوی	۳	۱	۲
تهران	۲	۱	۱
آذربایجان شرقی	۱ (پاراپرتوسیس)	۱	-
اصفهان	۱	۱	-
خوزستان	۱	-	۱
قم	۱	۱	-

جدول شماره ۳: مقایسه مصرف آنتی بیوتیک و استفاده از سوآپ پنبه‌ای در آزمایش کشت بوردتلا در نمونه های مورد بررسی

	مصرف آنتی بیوتیک			استفاده از سوآپ پنبه ای
	مثبت	منفی	نامشخص	
کل نمونه (۱۰۸۴ نفر)	۸۲۶	۲۰۶	۵۲	۶۳
کشت مثبت (۱۲ نفر)	۷	۴	۱	۱

جدول شماره ۴: مقایسه اشکالات نمونه های مشکوک به سیاه سرفه ارسالی در سال های ۱۳۸۸ و ۸۹ به تفکیک استان

شماره	استان	تعداد نمونه ارسالی استان	تعداد اشکالات نمونه های ارسالی استان
۱	آذربایجان شرقی	۲۷	۱۳
۲	اصفهان	۳۰	۸
۳	ایلام	۷	۵
۴	تهران	۲۴۲	۲۶
۵	چهارمحال وبختیاری	۴۰	۶
۶	خراسان رضوی	۲۲	۴
۷	خراسان جنوبی	۳۸	۱۲
۸	خراسان شمالی	۳	۲
۹	خوزستان	۳۶	۱۵
۱۰	سمنان	۲۰	۴
۱۱	فارس	۲۲	۲
۱۲	قزوین	۴۵	۴
۱۳	قم	۸۵	۱۱
۱۴	کردستان	۱۷	۳
۱۵	کرمانشاه	۲۶	۴
۱۶	کرمان	۲	۰
۱۷	گلستان	۱۴	۸
۱۸	گیلان	۶	۱
۱۹	لرستان	۹	۴
۲۰	مازندران	۲۶۲	۹۶
۲۱	هرمزگان	۱۹	۷
۲۲	همدان	۴۸	۱۸
۲۳	یزد	۲۳	۸
۲۴	مرکزی	۱۵	۷
۲۵	آذربایجان غربی	۱۰	۸
۲۶	البرز	۲	۰
۲۷	زنجان	۳	۲
۲۸	سیستان و بلوچستان	۸	۲
۲۹	نامشخص	۳	۳

بحث

تشخیص آزمایشگاهی بوردتلا پرتوسیس به‌عنوان عامل مولد بیماری سیاه‌سرفه می‌تواند مزایای فراوانی داشته باشد از جمله: تخمین فراوانی این بیماری در

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:27 +0430 on Wednesday September 20th 2017

کشور، بهبود و پیشرفت در نمونه‌گیری و تشخیص بیماری، نگهداری باکتری‌های موجود در جامعه جهت بررسی‌های آینده از قبیل تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری وانجام مطالعات مولکولی. علی‌رغم سخت رشد بودن و حساسیت فوق‌العاده این باکتری به شرایط محیطی از قبیل خشکی، آزمایش کشت همچنان به عنوان استاندارد طلایی در تشخیص این باکتری به شمار می‌رود. اختصاصی بودن این آزمایش ۱۰۰ درصد ولی حساسیت آن حدود ۵۸ درصد می‌باشد(۹). حساسیت پایین این روش دلایل متعددی دارد یکی از آن‌ها می‌تواند مصرف آنتی‌بیوتیک قبل از انجام آزمایش باشد. علت دیگر وجود علایم عمومی در اوایل ابتلا به این بیماری است که باعث می‌شود پزشک در ارجاع بیمار به آزمایشگاه جهت بررسی سیاه‌سرفه تعلل ورزد و همان‌طور که می‌دانیم در روش کشت میزان جداسازی باکتری در دو هفته اول بیماری بسیار بالاتراست و به مراتب پس از گذشت این زمان شانس جداسازی کاهش می‌یابدو باید از روش‌های تکمیلی دیگری مانند آزمایشات مولکولی در تشخیص آزمایشگاهی استفاده نمود(۵). بنابراین تشخیص بیماری در مراحل اولیه و گرفتن صحیح نمونه و ارسال به موقع آن به آزمایشگاه دارای اهمیت زیادی است.

دراین مطالعه ۳ نمونه از ۱۲ مورد مثبت، مربوط به افراد زیر۲ ماه و ۶ نمونه مربوط به افراد ۲ ماه تا ۲ سال بود که این یافته‌ها با شیوع این بیماری در کودکان مطابقت دارد(۶،۱۴-۱۲). شیوع بیماری درکودکان می‌تواند به دلیل واکسینه نبودن یا کامل نبودن واکسیناسیون در این گروه سنی باشد. در مقالات، بیان شده که بزرگسالان مخزن عفونت می‌باشند(۱۷-۱۵) که این امر به دلیل کاهش ایمنی بدن براثرگذشت زمان واکسیناسیون و همچنین فقدان علایم اختصاصی بیماری در بزرگسالان و در نتیجه عدم شناسایی بیماری در این گروه سنی و ارتباط نزدیک این ناقلین باکودکان می‌باشد(۱۸). نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که تنها ۱ مورد مثبت در گروه سنی بالای ۱۰سال و ۲ مورد مثبت درگروه سنی ۲ تا ۱۰ سال وجود دارد. با این وجود به دلیل کم بودن نمونه‌های مثبت جدا شده نمی‌توان راجع به میزان شیوع این بیماری در گروه‌های سنی مختلف در ایران نظر قطعی داد.

در کشورهای دنیا میزان جداسازی این باکتری از طریق کشت، آمار متغیری بین ۴ تا۵۰ درصد دارد. به عنوان مثال در یک بررسی در امریکا این میزان حدود ۴ درصد(۱۹) و یا در دانمارک ۱۵ درصد(۹) بوده، درحالی‌که دراین بررسی میزان جداسازی تنها در حدود ۱/۱ درصد می‌باشد که دلایل آن همان‌طور که گفته شد می‌تواند ناشی از عدم تشخیص به موقع بیماری به‌خصوص در بزرگسالان و در نتیجه ارجاع دیر هنگام بیمار به آزمایشگاه، عدم نمونه‌گیری صحیح و تأخیر در ارسال نمونه به آزمایشگاه باشد. همان‌طورکه ذکر شد بهترین نمونه برای انجام این آزمایش ترشحات نازوفارنکس است و در شرایطی خاص که امکان نمونه‌برداری از این موضع نباشد می‌توان از ناحیه نازال نمونه تهیه نمود. با وجود این‌که مصرف آنتی‌بیوتیک قبل از نمونه‌گیری میزان جداسازی باکتری را کاهش می‌دهد، از ۱۲ نمونه کشت مثبت در این بررسی، ۷ نمونه از بیمارانی جدا شد که مصرف آنتی بیوتیک داشته اند. به نظر می رسد این امر به دلیل نمونه‌گیری در اوایل مصرف آنتی‌بیوتیک بوده و یا بیمار به درستی دارو را مصرف نکرده و یا ناشی از مقاومت باکتری به آنتی‌بیوتیک مصرفی باشد. همچنین با وجود این‌که سوآپ پنبه ای برای این باکتری توکسیک می‌باشد. ۱ مورد از موارد کشت مثبت با سواب پنبه‌ای نمونه‌گیری شده است.

امروزه پوشش واکسیناسیون در کشور ایران بر طبق آمار مرکز مدیریت بیماری‌های واگیر وزارت بهداشت و درمان کشور ۹۹ درصد می‌باشد. با این حال نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ۹ مورد از نمونه‌های جدا شده از افرادی بوده‌اند که واکسینه شده‌اند و ۱ مورد از نظرانجام واکسیناسیون نامشخص بوده نتایج آماری به‌دست آمده

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:27 +0430 on Wednesday September 20th 2017

نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین میزان موارد کشت مثبت و واکسیناسیون افراد وجود ندارد($p>0/05$) و با توجه به طغیان مجدد بیماری در سطح جهانی و دلایلی که در بخش مقدمه ذکر شد شاید بتوان گفت که در کشور ما نیز مواردی چون واکسیناسیون ناقص افراد، تغییرات ژنتیکی سویه‌ها و احتمال متفاوت بودن سویه‌هایی که اخیراً باعث بیماری شده‌اند با سویه‌های مورد استفاده در واکسن و همچنین ناقل بودن افراد بزرگسال (بر اثر کم شدن ایمنی نسبت به این باکتری با گذشت زمان) از عوامل مهم ایجاد این بیماری در افراد واکسینه شده است(۲۲-۲۰). کمبود مطالعات در زمینه شیوع بیماری سیاه‌سرفه در ایران و نتایج به‌دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد که این بیماری علی‌رغم اهمیتی که دارد هنوز از سوی پزشکان و همکاران آزمایشگاهی جدی گرفته نمی‌شود. بنابراین با توجه به مشکلات کلینیکی و پاراکلینیکی مربوط به این بیماری در کشور و نیز حساسیت پایین روش کشت در تشخیص بوردتلا پرتوسیس به عنوان یک باکتری مهم در این زمینه استفاده از روش‌های ملکولی از جمله روش RealTime PCRدر تشخیص سریع و به موقع این باکتری ضروری می‌باشد. با توجه به گسترده بودن زمینه تحقیق در رابطه با این بیماری انجام مطالعات بیشتر از جمله مطالعات مولکولی در این زمینه لازم به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از همکاری پرسنل بخش میکروب‌شناسی انستیتو پاستور به‌خصوص آقایان حسن شفیعی و رضا عزیزیان و اداره مرکز مدیریت بیماری‌های واگیر وزارت بهداشت سرکار خانم فهیمه دوستی تقدیر و تشکر بعمل می آید.

References

1. Cherry JD, Heininger U. Pertussis and other Bordetella infections. In: Textbook of pediatric infectious diseases. Feigin RD, Cherry JD, Demmler GJ, Kaplan S, (eds). 5th ed. Philadelphia, Pa: The W.B. Saunders Co; 2004. p. 1588-1608.
2. Mattoo S, Cherry JD. Molecular Pathogenesis, Epidemiology, and Clinical Manifestations of Respiratory Infections Due to Bordetella pertussis and Other Bordetella Subspecies. Clin Microbiol Rev 2005; 18(2): 326-382.
3. McIntyre P, Gidding H, Gilmour R, Lawrence G, Hull B, Horby P, et al. Vaccine preventable diseases and vaccination coverage in Australia, 1999-2000. Commun Dis Intell 2002; 26(Suppl): S1-S111.
4. Galanis E, King A, Varughese P, Halperin SA, Impact investigators. Changing epidemiology and emerging risk groups for Pertussis. Can Med Assoc J 2006; 174(4): 451-452.
5. Wood N, Mclntyre P. Pertussis: review of epidemiology, diagnosis, management and prevention. Pediatr Respir Rev 2008; 9(3): 201-212.
6. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Pertussis--United States, 2001-2003. Morb Mortal Wkly Rep 2005; 54(50): 1283-1286.
7. World Health Organization (WHO). Laboratory manual for the diagnosis of whooping cough caused by Bordetella pertussis/Bordetella parapertussis. 2nd ed. Geneva, Switzerland: WHO Document Production Services; 2007.
8. Templeton KE, Schegtinga SA, Van der Zee A, Diederen BM, van Kruijssen AM, Goossens H, Kuijper E, Claas EC. Evaluation of real-time PCR for detection and discrimination between Bordetella pertussis, Bordetella parapertussis, and Bordetella

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 6:27 +0430 on Wednesday September 20th 2017

holmesii for clinical diagnosis. J Clin Microbiol 2003; 41(9): 4121-4126.

9. Dragested DM, Dohn B, Madsen J, Jensen JS. Comparision of culture and PCR for detection of Bordetella pertussis and Bordetella parapertussis under routine laboratory conditions. J Med Microbiol 2004; 53(8): 749-754.
10. Isenberg DH. Clinical Microbiology Procedures Handbook, American Society for Microbiology. 2nd ed. Washington DC: ASM Press; 2004.
11. Banon EJ, Peterson LR, Finegold SM. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 9th ed. St. Louis: Mostby; 1994.
12. Menzies R, Wang H, Mclntyre P. Has pertussis increased in NSW over the past decade? An evaluation using hospitalization and mortality data versus notifications 1988-2002. N S W Public Health Bull 2003; 14(4-5): 71-76.
13. Crowcroft NS, Pebody RG. Recent developments in pertussis. Lancet 2006; 367(9526): 1926-1936.
14. Juretzko P, von Kries R, Hermann M, Wirsing von König CH, Weil J, Giani G. Efffectivness of acellular Pertussis vaccine assessed by hospital based active surveillance in Germany. Clin Infect Dis 2002; 35(2): 162-167.
15. Forsyth K, Tan T, Von Kirsig CH, Caro JJ, Plotkin S. Potential strategies to reduce the burden of pertussis. Pediatr Infect Dis J 2005; 24(Suppl 5): S69-S74.
16. Altunaiji SM, Kukuruzovic RH, Curtis NC, Massie J. Antibiotics for whooping cough (pertussis). Cohrane Database Syst Rev 2007; 18(3): CD004404.
17. Kowalzik F, Barbosa AP, Fernandes VR, Carvalho PR, Avila-Aguero ML, Goh DY, et al. Prospevtive multinational study of pertussis infection in hospitalized infants and their household contacts. Pediatr Infect Dis J 2007; 26(3): 238-242.
18. Plotkhn SA, Orenstein WA. Vaccines. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1999.
19. Probert WS, Ely J, Schrader K, Atwell J, Nossoff A, Kwan S. Identification and evaluation of new target sequences for specific detection of Bordetella pertussis by real-time PCR. J Clin Microbiol 2008; 46(10): 3228-3231.
20. Cherry JD. The epidemiology pertussis: a comparision of the epidemiology of the disease Pertussis with the epidemiology Pf *Bordetella pertussis* infection. Pediatrics 2003; 115(5): 1422-1427.
21. Wendelboe AM, Van Rie A, Salmaso S, Englund JA. Duration of immunity against Pertussis after natural infection or vaccination. Pediatr Infect Dis J 2005; 24(Suppl 5): 558-561.
22. Aguas R, Goncalves G, Gomes MG. Pertussis: increasing disease as a consequence of reducing transmission. Lancet Infect Dis 2006; 6(2): 112-117.