

مقایسه میزان توکسین TSST-1 در نمونه زخم سوختگی کودکان تب‌دار و بدون تب

چکیده

دریافت: ۱۳۹۲/۰۷/۲۷ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۲۶ آنلاین: ۱۳۹۳/۰۱/۱۰

زمینه و هدف: سندرم شوک توکسیک، از پیامدهای خطرناک سم نوع یک سندرم شوک سمی (Toxic Shock Syndrome Toxin-1, TSST-1) ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس است. تشخیص زودرس عفونت/استافیلوکوکوس اورئوس و پیشگیری از عواقب تولید TSST-1 در کودکان دچار سوختگی اهمیت زیادی دارد. از مهم‌ترین نشانه‌های تولید TSST-1 در بیماران دچار سوختگی وجود تب است. این مطالعه با هدف مقایسه TSST-1 در نمونه زخم سوختگی دو گروه کودکان تب‌دار و بدون تب این بیماران در سال ۹۲ و از بیماران بستری از بیمارستان شهید مطهری انتخاب شدند.

روش بررسی: در این مطالعه مورد-شاهدی، ۹۰ کودک بستری در بخش سوختگی در دو گروه ۴۵ نفره تب‌دار (گروه مورد) و بدون تب (گروه کنترل) قرار گرفتند. از نمونه زخم کلیه کودکان دارای سوختگی، نمونه‌برداری انجام شد و سپس نمونه‌ها تحت انجام آزمون PCR برای شناسایی پرایمر اختصاصی ژن TSST-1 قرار گرفتند. در نهایت نتایج آزمایشات جمع‌آوری گردید و تحلیل آماری انجام شد.

یافته‌ها: نتایج مثبت آزمون PCR (تولید سم نوع یک سندرم شوک سمی) در کودکان تب‌دار ۳۷/۷٪ و در کودکان فاقد تب ۱۱/۱٪ بود که این تفاوت از لحاظ آماری معنادار بود ($P=0/003$). میانگین و انحراف معیار درصد سطح سوختگی در مجموع نتایج مثبت آزمون PCR، $93/16 \pm 9/30$ و در مجموع نتایج منفی آزمون PCR، $02/11 \pm 20/09$ بود که این تفاوت از لحاظ آماری معنادار بود ($P=0/01$)، اما بین موارد آزمون مثبت PCR و آزمون منفی PCR، تفاوت معناداری از لحاظ جنسیت و سن وجود نداشت ($P>0/05$).

نتیجه‌گیری: در این مطالعه، ارتباط توکسین TSST-1 با ایجاد تب در کودکان دچار سوختگی مورد تأیید قرار گرفت. هم‌چنین ارتباطی بین تولید توکسین TSST-1 و افزایش سطح سوختگی دیده شد. انجام تحقیقات بیش‌تر در این زمینه توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: سوختگی، تب، استافیلوکوک اورئوس، توکسین سندرم شوک توکسیک (TSST-1).

شیمیا جوادینیا^۱، رامین عسگریان^۲
ثمیله نوربخش^۳، بهنام ثبوتی^۳
محمد رضا شکرالهی^۴
آذر دخت طباطبایی^{۵*}

۱- گروه داخلی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی کودکان، مجتمع آموزشی درمانی حضرت رسول اکرم (ص)، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران.
۲- مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی کودکان، مجتمع آموزشی درمانی حضرت رسول اکرم (ص)، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران.
۳- بیمارستان سوختگی شهید مطهری، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران.
۴- گروه عفونی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، خیابان ستارخان، خیابان نیایش، مجتمع آموزشی و درمانی حضرت رسول اکرم (ص)، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی کودکان
تلفن: ۰۲۱-۶۶۵۱۶۰۴۹
E-mail: cpidir@gmail.com

مقدمه

تولید و ترشح می‌کند که آنروتوکسین‌های استافیلوکوکی و سم نوع یک سندرم شوک سمی (Toxic Shock Syndrome Toxin, TSST-1) از آن جمله هستند.^۳ سندرم شوک توکسیک (Toxic Shock Syndrome, TSS) که توسط TSST-1 ایجاد می‌شود با یک بیماری مختصر شامل تب بالا، اسهال، التهاب ملتحمه، سردرد شروع شده و

استافیلوکوک اورئوس (*Staphylococcus aureus*) از باکتری‌های کوکسی گرم مثبت می‌باشد که در بالغین در پوست و در کودکان در گلو کلونیزاسیون می‌شود.^{۱،۲} این باکتری فاکتورهای ویروانس زیادی

در کودکان دچار سوختگی شدید مورد بررسی قرار گرفت. الگوی کولونیزاسیون *استافیلوکوک اورئوس* در ۵۳ کودک دچار سوختگی که در بیمارستان پذیرش شده‌اند مطالعه شد. طبق بررسی صورت گرفته نیمی از آن‌ها آنتی‌بادی‌های TSST-1 را دارا بودند.^{۱۱}

به نظر می‌رسد با بررسی بیان ژن TSST-1 در بیماران دچار سوختگی و مقایسه آن با بیمارانی که دارای تب و بدون تب بودند بتوان به اطلاعات با ارزشی در مورد تاثیر سم TSST-1 در بروز تب پی برد و در درمان‌های موثرتر این بیماران و همچنین کاهش تب در آن‌ها دست یافت.

روش بررسی

این مطالعه بنیادی- کاربردی از نوع مورد شاهدهی (case-control) در بخش سوختگی بیمارستان شهید مطهری تهران در سال ۱۳۹۲ اجرا شد. پس از دریافت رضایت کتبی از والدین کودکان بستری در بخش سوختگی، نمونه‌گیری به روش در دسترس انجام گردید. با کاربرد فرمول تعیین حجم نمونه در مجموع ۹۰ کودک وارد مطالعه شدند، به نحوی که ۴۵ کودک دارای تب برای گروه مورد و ۴۵ کودک بدون تب برای گروه کنترل انتخاب شدند. سپس از نمونه زخم سوختگی کلیه کودکان، به وسیله دو سوآپ استریل نمونه‌برداری انجام شد و در لوله حاوی محیط کشت مخصوص باکتری قرار داده شدند و نمونه‌ها جهت انجام تست PCR به آزمایشگاه مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی کودکان مجتمع درمانی آموزشی حضرت رسول اکرم (ص) ارسال گردید. در آزمایشگاه، DNA باکتری با استفاده از DNA extraction kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) استخراج گردید و سپس پرایمر اختصاصی ژن TSST-1 با استفاده از Polymerase Chain Reaction (PCR) مورد بررسی قرار گرفت. جهت این بررسی از پرایمر اختصاصی 5-TGTAGATCTACAAACGATAATATAAAGGAT-3 و 5-ATTAAGCTTAATTAATTTCTGCTTCTATAGTT-3 استفاده شد. شرایط لازم برای این آزمون مشابه با سایر تحقیقات^{۱۲} اجرا شد که شامل مرحله آغازین با دمای ۹۴ °C به مدت پنج دقیقه، مرحله واسرشتگی اولیه (Denaturation) با دمای ۹۴ °C به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال پرایمرها به هدف (Annealing) با دمای ۷۲ °C به مدت

ممکن است به سرعت به کاهش فشارخون، شوک، سندرم زجر تنفسی، انعقاد داخل عروقی، ترومبوسیتوپنی شدید و نارسایی کلیه ختم شود.^۴ سم نوع یک سندرم شوک سمی از سوپر آنتی‌ژن‌ها با وزن مولکولی ۲۲ کیلودالتون می‌باشد که در پنج تا ۲۵ درصد گونه‌های جدا شده *استافیلوکوک اورئوس* تولید می‌شود. این سم باعث ایجاد سندرم شوک توکسیک می‌شود که به علت تحریک آزادشدن سایتوکین‌های مختلف التهابی از جمله اینترلوکین-۱ (IL-1)، اینترلوکین-۲ (IL-2) و فاکتور نکروزدهنده تومور (TNF) می‌باشد.^۵ TSST-1 توسط ژن tstH کد می‌شود که قسمتی از عناصر متحرک ژنومی (Mobile genetic element) جزایر پاتولوژیک *استافیلوکوک اورئوس* می‌باشد.^۶

سم TSST-1 از خانواده سوپر آنتی‌ژن‌ها می‌باشد که باعث فعال شدن طیف وسیعی از لنفوسیت‌های T بدون اختصاصیت آن‌ها می‌شود. این سم‌ها با اتصال هم‌زمان به ناحیه V β در پذیرنده آنتی‌ژنی لنفوسیت‌های T (T cell receptor) و مولکول‌های MHC کلاس II فعالیت خود را انجام می‌دهند و منجر به فعال شدن پنج تا ۳۰٪ همه لنفوسیت‌های T یاریگر (T helper cells) بیان‌کننده CD4 می‌شود.^۷ یکی از مهم‌ترین نتایج وجود سم TSST-1 در بیماران وجود تب می‌باشد. همچنین یکی از علل بروز تب در بیماران سوختگی وجود *استافیلوکوک اورئوس* در زخم یا خون بیماران سوختگی می‌باشد.^۸ طبق یک مطالعه که در سال ۲۰۱۲ در کشور انگلستان صورت گرفته است، فعالیت لیتیک و سیتولیتیک تعدادی از نمونه‌های مثبت TSST-1 آزمایشگاهی و بالینی گونه‌های *استافیلوکوک اورئوس* حساس به متی‌سیلین و گونه PAO1 *سودوموناس آئروژینوس* تست شدند. که در نهایت هیچ ارتباطی بین بیان TSST-1 و کمبود محصول اگزوتوکسین نیافتند و پیشنهاد دارند که عفونت با *استافیلوکوک اورئوس* در یک زخم ناشی از سوختگی در کودکان نباید برای رد سندرم شوک توکسین استفاده شود.^۹

در مطالعه دیگری که در سال ۱۹۹۹ صورت گرفت میزان سطوح آنتی‌بادی را در کودکان دچار سوختگی سنجیدند. نتایج در ۳۸ کودک (زیر چهار سال) گزارش شد که در زمان پذیرش حدود ۵۰٪ از کودکان آنتی‌بادی‌های TSST-1، IgG را بالاتر از آنچه انتظار رفت دارا بودند.^{۱۱} در یک بررسی مشابه که توسط Chils صورت گرفت، اهمیت *استافیلوکوک اورئوس* در اتیولوژی موارد فرض شده TSST-1

سال بودند. در این گروه، سطح سوختگی بین شش تا ۶۵٪ با میانگین و انحراف معیار ۲۵/۵۸±۱۵/۰۱ درصد بود. در گروه کنترل (بدون تب)، ۲۴٪ (۵۳/۳) نفر پسر و ۲۱٪ (۴۶/۷) نفر دختر با میانگین سن ۳/۹±۲/۵۳ سال بودند. در این گروه، سطح سوختگی بین چهار تا ۴۵٪ با میانگین و انحراف معیار ۱۱/۴±۲۰/۱۴ بود. جدول ۱ فراوانی جنسیت و جدول ۲ فراوانی سن و درصد سوختگی را برحسب نتیجه آزمون PCR در دو گروه مورد و شاهد نشان می‌دهد. بررسی ما نشان داد که بین دو گروه کودکان تب‌دار و بدون تب از لحاظ بروز توکسین TSST-1 تفاوت معنادار وجود داشت. به طوری که در س گروه مورد (تب‌دار)، ۱۷ مورد از ۴۵ مورد (۳۷/۷٪) دارای توکسین TSST-1 بودند، در حالی که در گروه کنترل (بدون تب)، فقط پنج مورد از ۴۵ مورد (۱۱/۱٪) دارای توکسین TSST-1 بودند (P=۰/۰۰۳). جدول ۳ فراوانی نتیجه مثبت آزمون PCR (بروز توکسین TSST-1) را در دو گروه مورد و شاهد نشان می‌دهد.

در بررسی انجام شده از نظر سنی و جنس در مجموع نمونه‌ها، تفاوت معناداری در میانگین سنی و جنسیت کودکان بر اساس بروز توکسین TSST-1 (آزمون PCR مثبت) وجود نداشت. (P=۰/۰۵) و (P=۰/۰۶). در مجموع نمونه‌ها، درصد سطح سوختگی کودکان بر

۵۰ ثانیه و مرحله طویل شدن با دمای ۵۳°C به مدت ۳۰ ثانیه بود. سپس نمونه‌ها با استفاده از ژل آگارز ۱٪ مورد الکتروفورز قرار گرفتند.

در نهایت کلیه داده‌ها شامل جنسیت، سن، شدت و سطح سوختگی و نتایج آزمون PCR توسط همکار پژوهش جمع‌آوری گردید و مورد تحلیل آماری قرار گرفت و وارد نرم‌افزار SPSS گردید. برای تعیین فراوانی متغیرهای پژوهش از آمار توصیفی شامل میانگین، انحراف معیار و درصد فراوانی استفاده شد. از آزمون‌های χ^2 و Independent sample t-test برای مقایسه متغیرها بین دو گروه تب دار و بدون تب استفاده گردید. P<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در مجموع، ۹۰ کودک در دو گروه ۴۵ نفره (تب‌دار- بدون تب) در این پژوهش شرکت کردند که از این تعداد (۵۴٪/۶۰) نفر پسر و ۳۶٪ (۴۰) نفر دختر بودند. در مجموع نمونه‌های دو گروه، سن کودکان ۴/۰۴±۲/۵۱ سال بود. در گروه مورد (تب‌دار)، ۳۰٪ (۶۶/۷) نفر پسر و ۱۵٪ (۳۳/۳) نفر دختر و میانگین سن بیماران ۳/۹±۲/۵۳

جدول ۱: فراوانی متغیر جنسیت برحسب نتیجه آزمون PCR در دو گروه کودکان تب‌دار و کودکان بدون تب

P*	گروه شاهد (بدون تب)		گروه مورد (تب‌دار)		گروه	متغیرها
	PCR منفی	PCR مثبت	PCR منفی	PCR مثبت		
۰/۹۹	۲۱	۳	۱۹	۱۱	پسر	جنس
	۱۹	۲	۹	۶	دختر	

* آزمون آماری: χ^2 ، P<۰/۰۵ معنادار می‌باشد.

جدول ۲: فراوانی متغیرهای سن و درصد سوختگی برحسب نتیجه آزمون PCR در دو گروه کودکان تب‌دار و کودکان بدون تب

P*	گروه شاهد (بدون تب)		گروه مورد (تب‌دار)		گروه	متغیرها
	میانگین ± انحراف معیار PCR منفی	میانگین ± انحراف معیار PCR مثبت	میانگین ± انحراف معیار PCR منفی	میانگین ± انحراف معیار PCR مثبت		
۰/۰۰۵	۳/۸۶±۲/۳۳	۷/۵۰±۱/۹۱	۴/۰۱±۲/۲۶	۳/۷۰±۲/۹۸	سن (سال)	
۰/۰۰۳	۱۸/۳۵±۱۰/۴۶	۳۴±۹/۱۹	۲۲/۸۰±۱۱/۵۲	۲۹/۹۳±۱۸/۸۶	سوختگی (درصد)	

* آزمون آماری: Independent t-test، P<۰/۰۵ معنادار می‌باشد.

جدول ۳: فراوانی نتیجه آزمون PCR (بروز مثبت توکسین TSST-1) در دو گروه کودکان تب‌دار و بدون تب

گروه مورد مطالعه	نتیجه آزمون PCR (بروز مثبت توکسین TSST-1)	تعداد	درصد	P*
گروه مورد (تب‌دار)		۱۷	۳۷/۷	۰/۰۰۳
گروه شاهد (بدون تب)		۵	۱۱/۱	

* آزمون آماری: آ. $P < ۰/۰۵$ معنادار می‌باشد.

اساس میزان توکسین TSST-1 (آزمون PCR مثبت) دارای تفاوت معنادار بود ($P=۰/۰۱$) و موارد مثبت PCR در مقایسه با موارد منفی PCR دارای درصد سطح سوختگی بیش‌تری بود (۳۰٪ در مقابل ۲۰٪ سطح سوختگی). در گروه مورد (تب‌دار)، توکسین TSST-1 (تست PCR) در ۱۷ نفر (۳۷/۸٪) از بیماران مثبت و در ۲۸ نفر (۳/۶۲٪) منفی شد. در گروه کنترل (بدون تب)، توکسین TSST-1 (تست PCR) در پنج نفر (۱۱/۱٪) از بیماران مثبت و در ۴۰ نفر (۸۸/۹٪) منفی بود. در این گروه سطح سوختگی بر اساس میزان توکسین TSST-1 (آزمون PCR مثبت) دارای تفاوت معنادار بود ($P=۰/۰۰۳$)

بحث

سندرم شوک توکسیک از جمله اختلالات درگیرکننده ارگان‌های متعدد بدن است. بروز این سندرم در ایالات متحده، در حدود ۰/۵ در صد هزار جمعیت است.^{۱۳} عامل اصلی ایجاد سندرم شوک توکسیک، (TSST-1) ترشح شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد.^{۱۴} اغلب سوش‌های استافیلوکوکوس اورئوس که از بیماران مبتلا به شوک سمی جدا شده‌اند، سم ایجادکننده شوک سمی (TSST-1) را ایجاد می‌کنند که این توکسین موجب تب، کاهش فشارخون، علائم گرفتاری اندام‌های مختلف و بثورات پوستی می‌شود. برخی شرایط برای رشد استافیلوکوک تولیدکننده TSST-1 مساعد است که شامل وجود اکسیژن، pH خنثی و میزان پروتئین بالا، گلوکز کم، منیزیم پایین تا نرمال و دی‌اکسیدکربن زیاد است. در محیط‌های آزمایشگاهی، این شرایط به‌طور قابل توجهی موجب افزایش تولید TSST-1 و پروتئاز می‌شود.^{۱۳}

در مطالعات متعددی نقش توکسین‌های استافیلوکوکی در ایجاد بیماری‌های مختلف به‌ویژه در کودکان مطرح شده است. توکسین TSST-1 می‌تواند طیف وسیعی از بیماری‌ها را ایجاد نماید.^{۱۵} بدن انسان بر علیه این توکسین‌ها، آنتی‌بادی تولید می‌کند. بر پایه پژوهش‌ها، بیش از نیمی از کودکان حتی در نوزادی، دارای آنتی‌بادی ضد آنروتوکسین‌های استافیلوکوک و به‌ویژه TSST-1 می‌باشند. اثر حفاظتی آنتی‌بادی ضد توکسین TSST-1، با افزایش سن بالا می‌رود و تا سن ۱۰ سالگی که آنتی‌بادی در مقادیر لازم برای مقابله با عفونت کسب می‌شود، استعداد ابتلا به عفونت ادامه دارد. ۹۵٪ بالغین تا سن ۳۰ سالگی، دارای آنتی‌بادی می‌شوند.^{۱۰،۱۵}

عموم افراد دارای آنتی‌بادی ضد توکسین (TSST-1 Anti antibody) می‌باشند و به نظر می‌رسد این افراد نسبت به سایرین، خطر کم‌تری برای ابتلا به سندرم شوک توکسیک دارند. کودکان و افراد جوان به دلیل عدم مواجهه قبلی با توکسین و پایین بودن سطح آنتی‌بادی، خطر بالاتری برای ابتلا به این سندرم دارند.^{۱۶،۱۷} در مطالعه حاضر "بروز توکسین سندرم شوک توکسیک (مثبت شدن آزمایش PCR برای وجود توکسین TSST-1) در کودکان دچار سوختگی (دو گروه تب‌دار و بدون تب)" مورد ارزیابی قرار گرفت. در مطالعه حاضر از روش واکنش زنجیره پلیمرز (PCR) برای تشخیص وجود توکسین باکتری استفاده شد که روشی جدید و مناسب برای این مورد است. تشخیص توکسین‌های استافیلوکوکی از طریق روش‌های مختلف آزمایشگاهی است.

در مطالعات مختلف، روش‌های ایمنودیفیوژن، الیزا و آگلوتیناسیون از جمله روش‌های تشخیص قطعی سوپر آنتی‌ژن‌های استافیلوکوکی است. به‌تازگی تکنیک‌های Amplification (تقویت) مانند PCR برای شناسایی آنروتوکسین‌ها و توکسین سندرم شوک توکسیک به‌طور موفقیت‌آمیزی به‌کار رفته است، اما گران بودن و عدم دسترسی در اغلب موارد، دلیل مهم عدم استفاده همگانی وسیع از این روش‌ها است.^{۱۵} در پژوهشی که Norouzi، با عنوان شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس دارای ژن آنروتوکسین A-E و TSST-1 توسط روش PCR انجام داد، درصد بسیار بالایی از استافیلوکوکوس اورئوس حاوی ژن‌های آنروتوکسین و TSST-1 در نمونه‌های کلینیکی، مواد غذایی و انسان‌های سالم مشاهده گردید و پیشنهاد شد که از واکنش PCR برای جستجوی ژن‌ها یا آنروتوکسین و TSST-1 در استافیلوکوکوس

ضدتوکسین TSST-1 می‌تواند در تشخیص بیماران در معرض خطر سندرم شوک توکسیک مفید باشد. در مطالعه حاضر، کودکان دارای بروز مثبت توکسین TSST-1 (تست PCR مثبت) در مقایسه با موارد با تست PCR منفی، دارای شدت سوختگی بالاتر بودند. این موضوع در گروه بیماران بدون تب نیز دیده شد و در کودکان با بروز توکسین TSST-1، شدت سوختگی بیش‌تر بود. در مطالعات مختلف، ارتباط تولید توکسین TSST-1 با شدت و سطح سوختگی ارزیابی شده است. بر خلاف یافته مطالعه حاضر، برخی مطالعات احتمال بالای بروز توکسین TSST-1 و یا ابتلا به TSS را در سوختگی‌های با سطح کم‌تر نشان می‌دهند. به‌عنوان نمونه، در یک مطالعه در کودکان دچار سوختگی بستری در بیمارستان، ۲/۶٪ به سندرم شوک توکسیک مبتلا شدند. در این تحقیق میانگین سنی مبتلایان به TSS، دو سال و میانگین زمان جراحی تا ابتلا به سندرم، دو روز بود. اندازه سطح سوختگی بین ۲-۲۵٪ سطح بدن با میانگین ۹٪ بود.^{۱۵}

در مطالعه حاضر و در گروه بدون تب، موارد دارای بروز مثبت توکسین TSST-1 (تست PCR مثبت) دارای سن بالاتری بودند. ارتباط تیترا بالای آنتی‌بادی سرمی ضد TSST-1 با افزایش سن کودکان مبتلا به سوختگی، در مطالعات دیده شده است. به‌عنوان نمونه، در مطالعه‌ای که در سال‌های ۲۰۰۶ تا ۲۰۰۷ با هدف تعیین تیترا آنتی‌بادی سرمی ضد TSST-1 در کودکان ژاپنی انجام شد، ۱۱۹ بیمار بستری در بخش جراحی پلاستیک و ترمیمی، تحت آزمایش قرار گرفتند.

نتایج نشان داد که گروه سنی هفت ماهه تا دو ساله، دارای کم‌ترین تیترا مثبت آنتی‌بادی TSST-1 بودند، به نحوی که میزان تیترا آنتی‌بادی در دو گروه هفت تا ۱۲ ماهه و ۱۲ تا ۲۴ ماهه ۳/۳۳٪ و ۳/۳۳٪ گزارش شد. این دو گروه سنی دارای بیش‌ترین موارد بستری به دلیل علائم بالینی بودند که این امر استعداد بالای ابتلا به سندرم شوک توکسیک را در این کودکان نشان می‌دهد. ۷۸/۶٪ کودکان با سن کم‌تر از شش ماه دارای تیترا مثبت آنتی‌بادی TSST-1 بودند که بالاترین میزان تیترا مثبت بود. این امر به دلیل دریافت سطح بالای آنتی‌بادی ضد TSST-1 از مادر است. تیترا آنتی‌بادی بعد از سن سه سالگی، بالا رفته و تا سن شش سالگی، ۵۴/۵٪ کودکان دارای تیترا مثبت آنتی‌بادی بودند.^{۱۶} در برخی بررسی‌ها نیز نتایج مغایر با نتیجه حاضر (بروز مثبت توکسین TSST-1 با افزایش سن کودکان مبتلا به

اورئوس‌های جدا شده از منابع مختلف استفاده گردد.^{۱۷} در مطالعه حاضر، سم سندرم شوک سمی (TSST-1) به‌عنوان عاملی برای ایجاد تب در بیماران دچار سوختگی مورد ارزیابی قرار گرفت. بررسی‌های فراوان پیرامون این توکسین، به دلیل فراوانی و بیماری‌زایی بالا در عفونت‌های استافیلوکوکی است. در افراد دچار سوختگی، خطر رشد استافیلوکوک تولیدکننده TSST-1 زیاد است. بیش از ۶۴٪ سوختگی‌های کودکان، با بیش از یک نوع استافیلوکوک تولیدکننده توکسین، کلونیزه می‌شوند و کودکان دچار سوختگی نسبت به بزرگسالان، خطر بالاتری برای ابتلا به سندرم شوک توکسیک دارند. همچنین تشخیص TSST-1 مشکل است، زیرا علائم و نشانه‌های آن در مراحل اولیه بیماری با اغلب بیماری‌های شایع دوران کودکی مانند تب مخلک مشابه است. این اختلال در کودکان دچار سوختگی به نحو قابل توجهی مورد غفلت (Underdiagnosed) قرار می‌گیرد که به علت تظاهرات غیر اختصاصی بیماری همراه با بدتر شدن شرایط بیمار است.^{۱۸ و ۱۹}

بر طبق مطالعات مختلف، غربالگری سطح IgG آنتی‌بادی در کلیه کودکان پذیرش شده در بخش سوختگی ضروری است و آنتی‌بادی ضدتوکسین TSST-1 نیز بخشی از این آزمایشات را تشکیل می‌دهد. این روند به شناسایی کودکان در معرض خطر ایجاد سندرم شوک توکسیک در ۲-۳ روز پس از سوختگی، کمک می‌کند.^{۱۱} از طرفی علائم و نشانه‌های بالینی در تشخیص این سندرم به‌کار می‌رود. گاهی به دلیل وجود زخم سوختگی چرکی در کودکان، بروز سندرم شوک توکسیک را غیر محتمل تلقی می‌کنند. البته ثابت شده که وجود زخم چرکی برای رد سندرم شوک توکسیک کافی نیست.^{۱۱} در بررسی Noorbakhsh، سوپر آنتی‌ژن استافیلوکوک در مایع مفصلی تعداد زیادی از بیماران علی‌رغم کشت منفی استافیلوکوک به دست آمد و از اندک پژوهش‌هایی بود که سوپر آنتی‌ژن‌ها را به نحو مستقیم در مایع مفصل گزارش کرد.

نکته جالب در این بررسی، شناسایی سوپر آنتی‌ژن در مایع مفصل علی‌رغم کشت منفی مایع مفصلی بود. در این پژوهش، TSST-1 به‌عنوان شایع‌ترین سوپر آنتی‌ژن استافیلوکوک به میزان ۴۷٪ بود. بین موارد کشت مثبت استافیلوکوک با مثبت شدن سه نوع سوپر آنتی‌ژن، به‌جز سوپر آنتی‌ژن نوع A، در مایع مفصلی بیماران توافقی وجود نداشت.^{۱۴} در مجموع نتیجه‌گیری می‌شود که ارزیابی سطح آنتی‌بادی

مختلف برای اثبات نتایج پیشنهاد می‌شود. هم‌چنین پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده، ارتباط سطح آنتی‌بادی ضدتوکسین TSST-1 با سایر متغیرهای مرتبط با پاسخ ایمنی در بدن، مورد ارزیابی قرار گیرد و نیز سایر آنتی‌بادی‌های مهم علاوه بر آنتی‌بادی ضدتوکسین TSST-1 مورد بررسی قرار گیرد. در این پژوهش در مجموع، گروه کودکان تب‌دار نسبت به گروه بدون تب دارای موارد مثبت آزمون PCR بیش‌تری بود که می‌تواند نشان‌دهنده نقش آنتی‌بادی ضدتوکسین TSST-1 در ایجاد تب در کودکان دچار سوختگی باشد. هم‌چنین تست PCR مثبت در کودکان دچار سوختگی با سطح بیش‌تر سوختگی ارتباط داشت، اما با سن و جنس کودکان و با ایجاد تب ارتباطی نداشت.

سپاسگزاری: با تشکر از پرسنل محترم بیمارستان سوختگی شهید مطهری و مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی کودکان رسول اکرم (ص) که در اجرای این پروژه کمال همکاری را داشتند. این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی تحت عنوان "بررسی میزان توکسین TSST-1 در نمونه زخم کودکان تب‌دار و بدون تب دچار سوختگی بستری در بیمارستان شهید مطهری" مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران در سال ۹۱ با کد ۱۸۳۵۷ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران و ایران اجرا شده است.

سوختگی) دیده می‌شود. به‌عنوان مثال، در یک مطالعه در سال ۱۹۹۸، ۵۳ کودک زیر ۱۲ سال دچار سوختگی، تحت ارزیابی با آزمون الیزا قرار گرفتند که از این تعداد، در ۳۸ کودک با سن کم‌تر از چهار سال، آنتی‌بادی ضدتوکسین TSST-1 شناسایی شد. در ۵۰٪ از کل کودکان، آنتی‌بادی ضدتوکسین TSST-1 بالاتر از ۰/۲ اندازه‌گیری شد. هم‌چنین از ۱۲ کودک زیر یک‌سال در این مطالعه، در هفت مورد آنتی‌بادی ضدتوکسین TSST-1 بالاتر از ۰/۲ اندازه‌گیری شد. در مجموع در کودکان با سن پایین‌تر، میزان آنتی‌بادی ضدتوکسین TSST-1 بالاتر بود که یک یافته غیرقابل انتظار در این مطالعه ذکر گردید.^{۱۶}

در مطالعه حاضر بین دو گروه کودکان تب‌دار (مورد) و بدون تب (کنترل) از لحاظ بروز توکسین TSST-1 تفاوت معنادار وجود داشت و کودکان تب‌دار نسبت به بدون تب دارای بروز بالاتری از توکسین TSST-1 (تست PCR مثبت) بودند.

این نتیجه، نقش TSST-1 را در ایجاد تب در کودکان دچار سوختگی مورد تایید قرار می‌دهد. نقش توکسین‌های مختلف به‌عنوان سوپر آنتی‌ژن در ایجاد تب، مطرح شده است، اما پیرامون نقش توکسین TSST-1 استافیلوکوکی به‌طور خاص و ایجاد تب، مطالعات بسیار محدود است. به‌دلیل محدودیت در تعداد نمونه‌های پژوهش و وجود شرایط خاص به‌ویژه خصوصیات نژادی و ژنتیکی، نمی‌توان نتایج حاصله را به کل کودکان تعمیم داد و پژوهش در جمعیت‌های

References

- Lindberg E, Adlerberth I, Hesselmar B, Saalman R, Strannegård IL, Aberg N, et al. High rate of transfer of *Staphylococcus aureus* from parental skin to infant gut flora. *J Clin Microbiol* 2004;42(2):530-4.
- Lindberg E, Nowrouzian F, Adlerberth I, Wold AE. Long-time persistence of superantigen-producing *Staphylococcus aureus* strains in the intestinal microflora of healthy infants. *Pediatr Res* 2000;48(6):741-7.
- Kusunoki Y, Yamaoka M, Kasagi F, Hayashi T, Koyama K, Kodama K, et al. T cells of atomic bomb survivors respond poorly to stimulation by *Staphylococcus aureus* toxins in vitro: does this stem from their peripheral lymphocyte populations having a diminished naïve CD4 T-cell content? *Radiat Res* 2002;158(6):715-24.
- Todd J, Fishaut M, Kapral F, Welch T. Toxic-shock syndrome associated with phage-group-I *Staphylococci*. *Lancet* 1978;2(8100):1116-8.
- Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev* 2000;13(1):16-34, table of contents.
- Yarwood JM, McCormick JK, Schlievert PM. Identification of a novel two-component regulatory system that acts in global regulation of virulence factors of *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 2001;183(4):1113-23.
- Nakagawa S, Kushiya K, Taneike I, Imanishi K, Uchiyama T, Yamamoto T. Specific inhibitory action of anisodamine against a staphylococcal superantigenic toxin, toxic shock syndrome toxin 1 (TSST-1), leading to down-regulation of cytokine production and blocking of TSST-1 toxicity in mice. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005;12(3):399-408.
- El-Ghodban A, Ghenghesh KS, Márialigeti K, Esahli H, Tawil A. PCR detection of toxic shock syndrome toxin of *Staphylococcus aureus* from Tripoli, Libya. *J Med Microbiol* 2006;55(Pt 2):179-82.
- Laabei M, Young A, Jenkins TA. In vitro studies of toxic shock toxin-1-secreting *Staphylococcus aureus* and implications for burn care in children. *Pediatr Infect Dis J* 2012;31(5):e73-7.
- Childs C, Edwards Jones V, Dawson M, Davenport PJ. Toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) antibody levels in burned children. *Burns* 1999;25(6):473-6.

11. Childs C, Edwards-Jones V, Heathcote DM, Dawson M, Davenport PJ. Patterns of *Staphylococcus aureus* colonization, toxin production, immunity and illness in burned children. *Burns* 1994;20(6):514-21.
12. Nagao M, Okamoto A, Yamada K, Hasegawa T, Hasegawa Y, Ohta M. Variations in amount of TSST-1 produced by clinical methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates and allelic variation in accessory gene regulator (*agr*) locus. *BMC Microbiol* 2009;9:52.
13. Bacha EA, Sheridan RL, Donohue GA, Tompkins RG. Staphylococcal toxic shock syndrome in a paediatric burn unit. *Burns* 1994;20(6):499-502.
14. Noorbakhsh S, Talebi-Taher M, Tabatabaei A. Staphylococcal superantigens in synovial fluid of 62 patients with arthritis. *Tehran Univ Med J (TUMJ)* 2012;70(1): 41-8.
15. White MC, Thornton K, Young AE. Early diagnosis and treatment of toxic shock syndrome in paediatric burns. *Burns* 2005;31(2):193-7.
16. Quan L, Morita R, Kawakami S. Toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) antibody levels in Japanese children. *Burns* 2010;36(5):716-21.
17. Norouzi J, Goudarzi G, Pakzad P, Razavipour R. The isolation and detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxins A-E and TSST-1 genes from different sources by PCR method. *Qom Univ Med Sci J* 2012;6(3):78-85.
18. Khojasteh VJ, Edwards-Jones V, Childs C, Foster HA. Prevalence of toxin producing strains of *Staphylococcus aureus* in a pediatric burns unit. *Burns* 2007;33(3):334-40.

Toxic shock syndrome toxin level in wound samples of hospitalized children with burn: a case control study

Abstract

Received: 19 Oct. 2013 Accepted: 15 Feb. 2014 Available online: 01 Apr. 2014

Shima Javadinia M.D.¹
Ramin Asgarian Ph.D.²
Samileh Noorbaksh M.D.²
Behnam Soboti M.D.³
Mohammad Reza Shokrollahi M.D.⁴
Azardokht Tabatabaee M.Sc.^{2*}

1- Department of Internal Medicine, Research Center of Pediatric Infectious Diseases, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- Department of Pediatric Infectious Disease, Research Center of Pediatric Infectious Diseases, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3- Shahid Motahari Burn Hospital, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

4- Department of Pediatric Infectious Disease, Hazrat-e-Masoumeh Hospital, Ghom University of Medical Sciences, Ghom, Iran.

* Corresponding author: Hazrat-e-Rasool Akram Hospital, Niayesh St., Sattarkhan Ave., Tehran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.
Tel: +98- 21- 66516049
E-mail: cpidir@gmail.com

Background: Toxic shock syndrome (TSS), a dangerous consequence of Toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) caused by *Staphylococcus aureus*. The early detection for infections of *Staphylococcus aureus* in burned children is very important, also the prevention for consequences of TSST-1. Fever is one of the most noticeable sign in burned children. On the other hand, fever is one of the important consequences of TSST-1 production.

Methods: This study aimed to assess the toxic shock syndrome toxin-1 level in the wound's specimens of two groups febrile and afebrile in the hospitalized burned children in Motahari hospital Tehran, Iran in the year 2013. In this case-control study, 90 children who admitted to the burn unit, divided in two groups of 45 patients: febrile (cases group) and afebrile (control group). All of burned children under went wound biopsy, and then all of wound's specimens were tested by PCR for specific primer of toxin producing genome. Finally all of data collected and statistically analyzed. This data include group febrile and afebrile, demographic characteristics, percentage of burned surface severity and result of PCR.

Results: The positive result for PCR test, production of TSST-1 in febrile burned children (cases group) was 37.7% and in afebrile burned children (control group) was 11.1% that this different was statistically significant ($P=0.003$). The mean and standard deviation for percentage of burned surface (severity) in samples with positive result for PCR test was 30.9 ± 16.93 and in samples with negative result for PCR test was 20.09 ± 11.02 that this different was statistically significant ($P=0.01$). There was no difference between positive PCR result and negative PCR result of age and sex.

Conclusion: Direct association was approved between the production of TSST-1 and the occurrence of fever in burned children. Increased surface severity of burns also related to the production of TSST-1. Further research is recommended.

Keywords: burns, fever, polymerase chain reaction, *staphylococcus aureus*, toxic shock syndrome toxin-1.