مقایسه سطح آنتی‌بادی پنومولیزین سرمی و آنتی‌ژن پنوموکک ادراری (بیناکس) در کودکان مبتلا به عفونت تنفسی فوقانی و کودکان سالم

ثمیله نوربخش[1*]
محمد فرهادی،[2] فریده ابراهیمی تاج[3]
زهرا حججی،[3] آذردخت طباطبایی[4]

۱- گروه عفونی کودکان
۲- گروه گوش و حلق و بینی
۳- گروه بیماری‌های کودکان
۴- گروه میکروب‌شناسی، مربی

مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

[*] نویسنده مسئول: تهران، مرکز تحقیقات بیماری عفونی کودکان طبقه چهارم بیمارستان رسول اکرم (ص)، خیابان نیایش، خیابان ستارخان، صندق پستی: ۱۴۴۵۵
تلفن: ۶۶۵۲۵۳۲۸
email: Samileh_noorbakhsh@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۰۵/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۶/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: *استرپتوکک پنومونیه* از علل شایع عفونت تنفسی است. عفونت‌های تنفسی فوقانی در کودکان به ندرت توام با باکتریمی است. هدف این مطالعه جستجوی عفونت پنوموککی در کودکان مبتلا به عفونت تنفسی فوقانی با روش تعیین آنتی‌ژن ادراری پنوموکک و آنتی‌بادی سرمی پنومولیزین (علاوه بر روش معمول کشت) است.
روش بررسی: در مطالعه مقطعی/ مورد- شاهدی ۱۳۳ بیمار مبتلا به عفونت‌های تنفسی فوقانی(اوتیت، سینوزیت، آدنوییدیت، تراکییت) در درمانگاه و بخش‌های کودکان و گوش و حلق و بینی بیمارستان رسول‌اکرم (۱۳۸۸-۱۳۸۶) مطالعه شدند. بیماران مبتلا به عفونت‌های بیمارستانی حذف گردیدند. ۶۰ بیمار با روش کشت و آنتی‌ژن ادراری پنوموکک (بیناکس) پی‌گیری شدند. میزان آنتی‌بادی بر علیه پنومولیزین در سرم ۴۵ بیمار و ۶۶ کنترل سالم با روش الیزا اندازه‌گیری و مقایسه شد. ***یافته‌ها:*** از ۶۰ بیمار چهار نفر (۶/۶٪) کشت مثبت پنوموکک و یا هموفیلوس داشتند. آنتی‌ژن ادراری پنوموکک مثبت در (۳۰/۶۰)۵۰٪ در مقایسه با (۶۶/۴) نفر)۶٪ در گروه کنترل بود (p=۰/۰۱). سطح کات‌آف برای پنومولیزین، ۵۲۵pg/ml سطح زیر منحنی برای آنتی‌بادی پنومولیزین سرمی (۰/۹۷-۰/۸۶=۹۵٪CI، ۰/۹۲۳) (p<۰/۰۰۰۱). میانگین سطح پنومولیزین بین بیماران (۹۸۰) ۴۴۱+۹۸۲ و گروه کنترل سالم (۵۲۵) ۴۲+۵۲۵ متفاوت بود (p<۰/۰۰۰۱)، سطح پنومولیزین ۵۲۵pg/ml حساسیت ۸۷٪ و ویژگی ۸۲٪ در افتراق دو گروه داشت.
نتیجه‌گیری: سطح آنتی‌بادی اختصاصی پنومولیزین در بیماران مبتلا به عفونت‌های تنفسی غیر بیمارستانی با مقادیر ناچیز ۵۲۵pg/ml حساسیت (۸۷٪) و ویژگی (۸۲٪) مناسبی جهت تشخیص و افتراق عفونت پنوموککی بین بیماران و گروه کنترل سالم داشته و قویا به نفع عفونت پنوموککی است. مشروط به اینکه به روش استاندارد طلایی (کشت) و نیز تعیین آنتی‌ژن پنوموککی در ادرار افزوده گردد.

کلمات کلیدی: *استرپتوکک پنومونیه*، تست سریع آنتی‌ژن ادراری *استرپتوکک پنومونیه* (بیناکس‌نا)، پنومولیزین، عفونت تنفسی فوقانی.

مقدمه

عفونت دستگاه تنفسی فوقانی (Upper respiratory tract infection) از شایع‌ترین علل مراجعات سرپایی و بستری کودکان بوده و *پنوموکک (Streptococcus pneumoniae)* از عفونت‌های مهم در تمام سنین بسیاری از کشورها به ویژه کشورهای در حال توسعه است.[1] عوامل شایع عفونت تنفسی *استرپتوکوک پنومونیه* ۳۰ تا ۶۶٪، *هموفیلوس آنفولانزا* ۲۰ تا ۳۰٪، *موراکسلا کاتارالیس* ۱۲ تا ۲۸٪، باکتری‌های بی‌هوازی در ۳۰٪ که بیشتر موارد آن عفونت با منشأ دندانی هستند. شایع‌ترین عارضه عفونت تنفسی فوقانی اوتیت میانی و سینوزیت باکتریایی حاد است که نیاز به تجویز آنتی‌بیوتیک‌ها با هدف کوتاه کردن مدت عفونت و بیماری کاهش آسیب مخاطی و جلوگیری از درگیری اوربیت و سیستم عصبی مرکزی دارد.[2و3] عفونت‌های تنفسی پنوموککی در کودکان اغلب بدون باکتریمی است باکتریمی پنوموککی در موارد پنومونی حدود ۳۰-۱۰٪ است که در عفونت‌های تنفسی فوقانی کمتر نیز می‌باشد. بنابراین استفاده از روش کشت به عنوان استاندارد طلایی تشخیصی مشکل‌ساز است[4و5]

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-14]

بنابراین در سال‌های اخیر از روش‌های غیر مستقیم جستجوی آنتی‌ژن میکروب استفاده می‌شود. تست سریع آنتی‌ژن پنوموکک ادراری Binax NOW توام با کشت خون در تشخیص عامل پنوموککی پنومونی‌ها حساسیت ۷۲٪ و ویژگی تست ۹۴٪ داشته است.[۵و۶] در مطالعه Weather حساسیت تست‌های سریع جستجوی آنتی‌ژن پنوموکک در ادرار بیماران حداقل به اندازه کشت خون بوده است.[۷] مطالعات ۲۰ سال اخیر نشان داده روش‌های سرولوژیک جستجوی آنتی‌بادی بر علیه پنوموکک و ایمون کمپلکس در سرم کودکان و بالغین می‌تواند به تشخیص عفونت اخیر پنوموککی کمک کند.[۸و۱۴] آنتی‌بادی پنومولیزین بر علیه پلی‌ساکارید باکتری پنوموکک باعث تشدید فاگوسیتوز باکتری می‌شود. آنتی‌بادی پنومولیزین ضد التهاب بوده و از تهاجم و گسترش پنوموکک جلوگیری می‌کند. عفونت اخیر پنوموککی با اندازه‌گیری آنتی‌بادی پنومولیزین در سرم در ۳۸-۲۷٪ بیماران مبتلا به پنومونی، ۸-۷٪ موارد برونشیت و ۵-۱٪ عفونت‌های تنفسی اثبات شد.[۸] در مطالعه دیگری آنتی‌بادی و ایمون کمپلکس مثبت در ۳۷-۳۲٪ بیماران بستری مبتلا به عفونت پنوموککی و ۲۸-۲۷٪ بیماران سرپایی مثبت بود.[۹] در اوتیت‌های پنوموککی همراه با پنومونی هم افزایش تیتر آنتی‌بادی مشاهده شده است.[۱۰و۱۱] خوشبختانه بر خلاف آنتی‌ژن ادراری پنوموکک در افرادی که کاریر نازوفارنکس پنوموکک هستند آنتی‌بادی ایجاد نمی‌شود و تست سرولوژیک مثبت کاذب مشاهده نمی‌شود.[۱۲] بر عکس عفونت با سروتیپ‌های جدید می‌تواند منجر به افزایش تیتر آنتی‌بادی شود. افزایش در تیتر آنتی‌بادی بر علیه کپسول پلی‌ساکاریدی پنومولیزین فقط در ۳-۲٪ افراد بدون علامت دیده می‌شود.[۱۳و۱۴] عفونت‌های تنفسی در کودکان کشور ما شایع و برای سیستم بهداشتی و درمانی کشور بسیار پر هزینه است.[۱۵-۱۸] متأسفانه کشت‌های به دست آمده از خون و سایر نواحی ذاتا استریل در اغلب کودکان مبتلا به عفونت‌های تنفسی منفی است. مشکل منفی بودن کشت‌ها در کشور ما نسبت به سایر کشورها پایین‌تر از میزان انتظار است.[۱۹و۲۰] علی‌رغم مطالعات متعدد در ایران نقش عفونت‌های پنوموککی و سایر ارگانیسم‌ها در عفونت‌های تنفسی فوقانی کودکان ما مشخص نیست. از طرف دیگر مطالعات مختلف در سطح کشور، نشان می‌دهد ناقلین حلقی با پنوموکک در ایران کمتر از کشورهای توسعه یافته بوده و بین ۷-۳٪ است.[۲۱-۲۳] اثبات عفونت پنوموککی در کشور اهمیت زیادی دارد. در سال‌های اخیر استفاده از فرم کونژوگه واکسن پنوموکک در کشورهای توسعه یافته در پیشگیری و کنترل عفونت‌های پنوموککی بسیار موثر بوده است.[۲۴] نتایج این مطالعه نه تنها به انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب کمک می‌کند بلکه در پیشگیری و استفاده از واکسن موثر و در دسترس پنوموکک کونژوگه در سطح وسیع کشوری می‌تواند راه‌گشا باشد. هدف مطالعه فعلی، تعیین فراوانی عفونت‌های پنوموککی در کودکان مبتلا به عفونت‌های تنفسی فوقانی (اوتیت، سینوزیت، آدنوییدیت، تراکییت و غیره) علاوه بر کشت و جستجوی آنتی‌ژن ادراری پنوموکک، اندازه‌گیری سطح سرمی آنتی‌بادی بر علیه پنومولیزین پنوموکک در مقایسه با کودکان سالم است.

روش بررسی

در این مطالعه مورد- شاهدی، ۱۳۳ بیمار مبتلا به عفونت تنفسی فوقانی (اوتیت، سینوزیت، آدنوییدیت، تراکییت) در درمانگاه و بخش‌های کودکان و گوش و حلق و بینی بیمارستان رسول‌اکرم تهران وابسته به دانشگاه علوم پزشکی ایران طی سال‌های ۱۳۸۸-۱۳۸۶ با روش آسان (غیراحتمالی) انتخاب شدند. این طرح با مصوبه کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام شد. تمام مراحل انجام طرح به اصول عهدنامه هلسینکی متعهد بوده و کلیه هزینه‌ها رایگان بود. فرم موافقت‌نامه اخلاق در پژوهش پزشکی که برای هر کودک تکمیل گردید. بر اساس فرمول حجم نمونه ۶۰ نفر تعیین شد. بعد از معاینه بیماران توسط پزشک متخصص نوع عفونت تنفسی مانند اوتیت میانی (فقط بر اساس معاینات بالینی) یا ماستوئیدیت و سینوزیت و مانند آن تعیین شد. پرسشنامه مشخصات بیمار و سایر متغیرها مانند اطلاعات بالینی و آزمایشگاهی تکمیل گردید (لیست ضمیمه متغیرها). با نظر پزشک معالج، در صورت نیاز از بیماران تصویر برداری مناسب (سینوزیت، ماستوییدیت و مانند آن) انجام شد. ۶۰ بیمار با عفونت‌های بیمارستانی اثبات شده توسط کشت از ابتدا حذف شدند.[۳] این بیماران شامل ۴۱ بیمار مبتلا سینوزیت بیمارستانی (به تنهایی)، ۲۶ کودک علاوه بر سینوزیت، منتژیت چرکی، پنومونی باکتریال و یا باکتریمی و سپتی‌سمی توامان وجود داشت که با آزمایشات باکتریولوژیک نه تنها از مجرای سینوس، بلکه از نواحی دیگر مانند کشت خون و یا مایع نخاع و یا کشت لوله تراشه در آنان مثبت بود. ۱۰ نفر فوت کردند و بررسی نشدند.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-14]

نتایج باکتریولوژیک عفونت بیمارستانی: ارگانیسم‌های گرم مثبت مانند استافیلوکک، ارگانیسم‌های گرم منفی بیمارستانی مانند کلبسیلا، سودوموناو آسینتوباکترو عفونت توام هوازی و بی‌هوازی‌ها جدا شد. معیار ورود بیماران، ابتلا به عفونت تنفسی فوقانی بر اساس علایم بالینی و شرح حال و رضایت به انجام خون‌گیری در صورت نیاز انجام تصویربرداری‌ها (اسکن و رادیولوژی).

معیارهای خروج بیماران: سابقه ابتلا به بیماری‌های ضعف سیستم ایمنی (عدم تولید آنتی‌بادی اختصاصی)، مصرف داروهای سرکوبگر ایمنی و کورتیکوستروئید، عدم رضایت به خون‌گیری و یا ندادن نمونه خون و ادرار توسط بیماران.

گروه کنترل: از کودکان در همان گروه سنی که برای انجام اعمال جراحی الکتیو بستری و کاندید عمل هستند (هرنی، آپاندیسیت و اعمال ارتوپدی) انتخاب می‌شوند. این بیماران معمولا قبل از عمل توسط متخصص کودکان برای تایید قبل از عمل ویزیت شده و بعد از تایید سلامت عمومی و نداشتن عفونت برای عمل کاندید می‌شوند. از باقیمانده خون این بیماران (که برای آزمایشات روتین مانند قند و الکترولیت‌ها و غیره چک می‌شود) برای آزمایشات الیزا و نمونه ادراری هم که به طور روتین داده می‌شود استفاده شد. از تمامی بیماران مبتلا به عفونت تنفسی بستری در بخش خون‌گیری انجام و در محیط کشت بلاد آگار و در موارد مشکوک برای تشخیص قطعی در محیط کشت باکتک BACTEC Ped Plus (Becton, Dickenson company) کشت داده شد. در نمونه‌های مثبت کشت، پنوموکک توسط دیسک اپتوشین 5µg و توسط تست آگلوتیناسیون مثبت (Slidex Pneumo-kit; BioMérieux SA) تایید شد. یک نمونه ادرار تازه از ۶۰ بیمار و همچنین از ۶۶ کودک سالم (کنترل) در لوله‌های استریل گرفته شد. تعیین آنتی‌ژن ادراری پنوموکک با تست سریع ایمونوکروماتوگرافیک Immunochromatographic test (Binax-NOW Inc,. USA) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت، صورت گرفت.[۷] این تست آنتی‌ژن پلی‌ساکاریدی دیواره را که در تمام انواع پنوموکک مشترک است در عرض ۱۵ دقیقه مشخص می‌نماید. با یک سواب نمونه ادرار در مجاورت نوار کاغذی حاوی مواد ایمونوکروماتوگرافیک قرار گرفت. آنتی‌ژن ادرار توسط آنتی‌بادی‌های کونژوگه ضد پنوموککی که بروی کاغذ بی‌حرکت و جذب شده متصل و خطی را ایجاد می‌کند که با خط کنترل موجود بروی نوار کاغذی مقایسه می‌شود. بر اساس وجود و یا عدم وجود خط صورتی مایل به بنفش تفسیر می‌شود. تست مثبت را بر اساس وجود خط در نمونه و کنترل است. در صورت منفی بودن تست فقط تغییر رنگ در خط کنترل دیده می‌شود. جهت تعیین سطح آنتی‌بادی پنومولیزین از بیماران و گروه کنترل خون‌گیری انجام شد. سرم بعد از سانتریفوژ جدا شده و در فریزر نگهداری شد. به روی نمونه‌ها به طور هم‌زمان آزمایشات الیزا جهت اندازه‌گیری آنتی‌بادی ضد پنومولیزین به طریقه کمّی بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده ABCam, Germany, serum anti-pneumolysin IgG انجام شد.[۸] در آنالیز آماری مقایسه گروه‌ها با استفاده از تست‌های ($p<۰/۰۵$، CI=٪۹۵، χ^2) سطح معنی‌داری برابر با ۰/۰۵ در نظر گرفته شد و نیز Mann-Whitney test انجام گرفت. برای بررسی رابطه آن با متغیرهای کمّی از آزمون رگرسیون لجیستیک استفاده شد. برای تعیین کات‌آف سطح پنومولیزین برای تعیین موارد مبتلا به عفونت‌های تنفسی فوقانی از افراد بدون علامت از منحنی راک A Receiver-Operating- characteristic Curve (ROC) استفاده گردید.

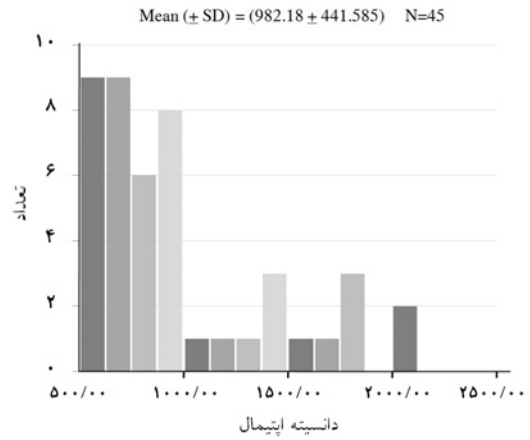
یافته‌ها

۶۵ بیمار مبتلا به عفونت تنفسی غیر بیمارستانی شناخته شد و انتخاب شدند. برای این بیماران علاوه بر کشت فقط در بیماران بستری)، ابتدا تست آنتی‌ژن پنوموکک ادرار و بررسی سرولوژیک آنتی‌بادی بر علیه پنومولیزین به روش الیزا در سرم ۴۵ بیمار و ۶۶ کنترل سالم اندازه‌گیری و مقایسه شد.

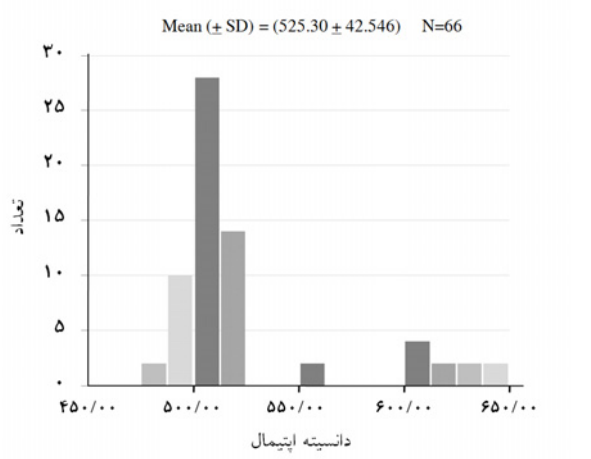
مشخصات بیماران مبتلا به عفونت تنفسی غیربیمارستانی: میانگین سنی بیماران بین شش ماه تا ۱۲سال با میانگین ۴/۶۷ سال و انحراف معیار ۲/۵۸ سال بود. (۲۶ نفر)٪۵۰ بیماران در گروه سنی زیر پنج سال بودند. (جدول ۱)، پاییز بیشترین فصل مراجعه بیماران بود. (جدول ۱) سینوزیت شایع‌ترین تظاهر بیماری بود (جدول ۱).

نتایج کشت: کشت مثبت خون در سه بیمار شامل هموفیلوس در دو مورد و پنوموکک در یک مورد بود. در یک بیمار مبتلا به اوتیت توام با افوزیون، کشت مثبت پنوموکک در پاراسنتز مایع گوش میانی بود. آنتی‌ژن ادراری پنوموکک در (۳۰/۶۰)٪۵۰ بیماران مثبت شد که شامل ۱۱ بیمار مبتلا به اوتیت میانی با افوزیون (یک مورد کشت پنوموکک مثبت از مایع گوش میانی با پاراسنتز هم داشت) و ۱۹ مورد

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-14]



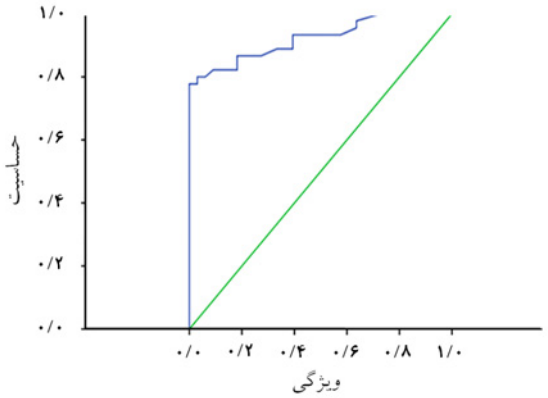
نمودار- ۱: سطح‌آنتی‌بادی ضدپنومولیزین‌سرمی در مبتلایان عفونت‌تنفسی فوقانی



نمودار- ۲: سطح آنتی‌بادی پنومولیزین سرم در گروه کنترل

متغیرهـــای OD* تست	ویژگی	حساسیت	مثبت اگر بیشتر یا برابر با مقادیر زیر
	۰/۴۸۵	۰/۹۳۳	۵۰۸/۵۰۰۰
	۰/۴۲۴	۰/۹۳۳	۵۰۰۰۵۰۹
	۰/۳۹۴	۰/۹۳۳	۵۱۰/۵۰۰۰
	۰/۳۹۴	۰/۹۱۱	۵۱۱/۵۰۰۰
	۰/۳۹۴	۰/۸۸۹	۵۱۲/۵۰۰۰
	۰/۳۶۴	۰/۸۸۹	۵۱۴/۰۰۰۰
	۰/۳۳۳	۰/۸۸۹	۵۱۶/۰۰۰۰
	۰/۲۷۳	۰/۸۶۷	۵۱۹/۵۰۰۰
	۰/۱۸۲	۰/۸۶۷	۵۲۵/۵۰۰۰
	۰/۱۸۲	۰/۸۴۴	۵۳۵/۵۰۰۰

*OD= Optimum density



نمودار- ۳: منحنی و جدول راک مربوط به سطح پنومولیزین سرم

جدول- ۱: توزیع فراوانی مبتلایان به عفونت‌های تنفسی فوقانی به تفکیک سن، فصل و محل درگیری

متغیر	تعداد	درصد
گروه‌های سنی		
زیر پنج سال	۲۶	٪۵۰
پنج تا۱۰ سال	۱۶	٪۲۶/۹
بالای ۱۰ سال	۱۴	٪۲۳/۱
Missing	۴	
مجموع	۶۰	٪۱۰۰
فصل		
بهار	۱۲	٪۲۰/۷
تابستان	۱۰	٪۱۶/۵
پاییز	۳۰	٪۵۰
زمستان	۷	٪۱۲/۸
محل درگیری		
سینوس	٪۴۲/۹	۲۴
اوتیت میانی با تراوش	٪۳۷/۵	۲۱
اوتیت همراه با سینوزیت	٪۱۲/۵	۷
تراکییت باکتریال	٪۱/۸	۱
آدنوییدیت	٪۵/۴	۳

Missing=۴

مبتلا به انواع دیگر عفونت فوقانی. نتایج سرولوژی: ۴۵ کودک مبتلا به عفونت تنفسی فوقانی (سینوزیت، تراکییت، اوتیت، ماستوییدیت و غیره) با منشأ غیر بیمارستانی که با بررسی‌های باکتریولوژیک (کشت)

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-14]

و آنتی‌ژن پنوموکک ادراری عامل عفونت مشخص نشده بود با روش سرولوژیک نیز بررسی و تیتر آنتی‌بادی بر علیه پنومولیزین اندازه‌گیری شد. منحنی مقدار آنتی‌بادی در بیماران در نمودار ۱ نشان داده شده است. مشخصات گروه کنترل (۶۶ نفر): ۵۱/۷٪ پسر و ۴۸/۳٪ دختر با میانگین سن ۵/۷ سال بودند. سطح آنتی‌بادی پنومولیزین در نمودار ۲ نشان داده شده است. ۶٪ از گروه کنترل (چهار از ۶۶) آنتی‌ژن ادراری پنوموکک داشتند. آنتی‌ژن ادراری مثبت پنوموکک در (۳۰/۶۰)۵۰٪ بیماران در مقایسه با (۶۶/۴ نفر)۶٪ در گروه کنترل به طور واضحی بالاتر بود. (p=۰/۰۱، ۹۵٪CI، Fisher's exact test). سطح زیر منحنی برای آنتی‌بادی پنومولیزین سرمی (۰/۹۷-۰/۸۶=۹۵٪CI، ۰/۹۲۳) و سطح کات آف برای پنومولیزین ۵۲۵pg/ml بود. میانگین سطح پنومولیزین بین بیماران (۹۸۰) ۴۴۱+۹۸۲ و گروه کنترل سالم (۵۲۵) ۴۲+۵۲۵ متفاوت بود (p<۰/۰۰۰۱). براساس منحنی و جدول راک (نمودار ۳) سطح پنومولیزین ۵۲۵pg/ml حساسیت ۸۷٪ و ویژگی ۸۲٪ در افتراق بیماران از گروه کنترل داشت.

بحث

در مرحله اول مطالعه فعلی ما توانستیم در بسیاری از بیماران مبتلا به عفونت‌های تنفسی فوقانی (با منشاء غیر بیمارستانی) با روش کشت و آنتی‌ژن ادراری نقش پنوموکک را در عفونت‌های تنفسی فوقانی کودکان نشان دهیم. در ۱۱ بیمار مبتلا به اوتیت میانی با افوزیون عفونت پنوموککی اثبات گردید که در یک بیمار کشت پنوموکک مثبت از مایع گوش میانی (پاراسنتز) به دست آمد. در ۱۹ کودک مبتلا به عفونت سایر دستگاه تنفسی فوقانی (سینوزیت، تراکییت، آدنوییدیت و مانند آن) فقط یک نفر کشت مثبت پنوموکک اما ۱۷ بیمار با استفاده از تست آنتی‌ژنیک ادراری عفونت پنوموککی تایید شد. بیشتر موارد مثبت کشت خون ناشی از ارگانیسم‌های بیمارستانی بود. به نظر می‌رسد همانند سایر مطالعات انجام کشت خون در تشخیص عامل عفونت‌های تنفسی فوقانی کمک کننده نیست. عفونت‌های تنفسی پنوموککی در اغلب کودکان بدون باکتریمی است بنابراین استفاده از استاندارد طلایی به تنهایی برای تشخیص نه تنها در مطالعه فعلی بلکه در تمامی مطالعات جهانی کافی نیست.[۱و۲] برعکس نتایج محدود کشت، آنتی‌ژن ادراری پنوموکک به طور معنی‌داری در گروه بیماران نسبت به کنترل بالاتر بود. بر اساس این نتایج جستجوی آنتی‌ژن پنوموکک در ادرار بیماران شاید بتواند نقش پنوموکک را در بیماران مبتلا به عفونت‌های تنفسی فوقانی بهتر و سریع‌تر ارزیابی نماید. در مطالعات قبلی در همین مرکز علی‌رغم استفاده از محیط‌های مغذی و روش پیشرفته باکتک احتمال جدا کردن ارگانیسم در عفونت‌های کودکان اگرچه از روش‌های معمولی کشت بالاتر بود اما در مجموع کمتر از میزان قابل انتظار بود.[۱۹و۲۰] مصرف قبلی آنتی‌بیوتیک و علل دیگر توجیه‌کننده کم بودن باکتریمی در تمامی این مطالعات منجمله مطالعه فعلی است. تشخیص آنتی‌ژن اختصاصی پنوموکک در ادرار ابتدا در بزرگسالان مبتلا به پنومونی و سپس در کودکان اثبات شد.[۵-۷] بسیاری از محققین حساسیت ۱۰۰-۷۰٪ و ویژگی ۸۹٪ را ذکر کرده‌اند. حساسیت تست سریع ادراری برای تشخیص پنومونی‌های توام با باکتریمی ۱۰۰-۷۷٪، پنومونی ناحیه‌ای ۸۵-۶۳٪ و پنومونی بدون باکتریمی ۱۱-۱۲٪ بوده است. موارد مثبت کاذب در کودکان تب دار بدون باکتریمی پنوموککی ۱۵٪ بود.[۵و۶] مطالعات مشابهی در ایران نقش پنوموکک را در پنومونی کودکان و نیز بالغین با روش آنتی‌ژن ادراری در مقایسه با گروه کنترل سالم به انجام رساند. (در دست چاپ) حساسیت تست ادراری در این دو مطالعه بسیار بالا بود. موارد مثبت در گروه کنترل سالم هم مشابه بررسی حاضر حدود ۶٪ بود. موارد مثبت کاذب در گروه سالم مطالعه فعلی (۶٪) تقریبا نصف منابع خارجی (۱۵٪) است. موارد آنتی‌ژن‌اوری پنوموکک در کودکان سالم با مطالعات دیگر کشور که براساس کشت حلق و تعیین ناقلین حلقی بدون علامت در تهران و مشهد انجام شده و بین ۷-۳٪ بسیار نزدیک می‌باشد.[۲۱-۲۳] اگرچه مطالعات سازمان بهداشت جهانی[۴] ضعف تکنیک در کشورهای توسعه یافته را از عوامل عمده ارزیابی پایین‌تر از واقع کاریر حلقی پنوموککی در نظر می‌گیرد. اما باید به علل دیگر مانند استفاده وسیع از آنتی‌بیوتیک‌ها که منجر به کاهش واقعی کاریر حلقی پنوموکک در کودکان ایران می‌شود نیز توجه نمود. در باقیمانده بیماران که با روش‌های قبلی نتوانستیم ارگانیسم و یا ردپای عفونت پنوموککی را به دست آوریم، با روش سرولوژیک و به طور غیر مستقیم آنتی‌بادی برعلیه پنومولیزین را جستجو کردیم. این روش نیز بسیار کمک کننده بود. مقدار عددی پنومولیزین سرمی در بیماران مبتلا به عفونت تنفسی تقریبا دو برابر گروه کنترل (سالم) بود. وجود

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-14]

مقادیر بسیار اندک آنتی‌بادی پنومولیزین در سرم بیماران می‌توانست با حساسیت (۸۷٪) و ویژگی (۸۲٪) قابل قبولی بیماران را از افراد سالم افتراق دهد (p<۰/۰۰۰۱). بنابراین این تست هم در تشخیص عفونت‌های پنوموککی بسیار با ارزش است. نتایج مطالعه ما مانند مطالعه دیگری[۱۰] است که افزایش در تیتر آنتی‌بادی پنومولیزین را فقط در دو تا سه درصد افراد بدون علامت گزارش کرد و نتیجه گرفتند که کاریر نازوفارنکس به تنهایی تاثیری بروی آنتی‌بادی ندارد. اگرچه کاریر با سروتیپ‌های جدید می‌تواند باعث افزایش تیتر آنتی‌بادی شود.[۱۰] مطالعه ما مشابهت زیادی با مطالعه‌ای که بروی پنومونی‌های پنوموککی شده دارد. آن مطالعه نشان داد که میزان آنتی‌بادی پنومولیزین در کودکانی که باکتریمی ندارند (کشت خون منفی) بیشتر از مواردی است که باکتریمی دارند و یا مبتلا به عفونت نیستند.[۱۱] بنابراین استفاده از روش‌های غیر مستقیم مانند تست‌های سریع ادراری برای جستجوی آنتی‌ژن پنوموککی و یا اندازه‌گیری آنتی‌بادی بر علیه پنومولیزین علاوه بر کشت، نقش این ارگانیسم را واضح‌تر می‌کند. مانند سایر کشورهای در حال توسعه به علت عدم تزریق واکسن پنوموکک، عفونت‌های پنوموککی از شایع‌ترین ارگانیسم‌های ایجاد کننده عفونت در دوران کودکی است. وجود باکتریمی و جدا کردن این باکتری در مبتلایان به عفونت‌های تنفسی فوقانی بسیار کم است. تعیین نقش پنوموکک در ایجاد عفونت‌های تنفسی فوقانی (مانند اتیت و سینوزیت و ماستوییدیت و آدنوییدیت و غیره) در کشور از نظر تعیین نوع درمان آنتی‌بیوتیکی و یا توصیه به انجام واکسیناسیون از اهمیت زیادی برخوردار است که نیاز به استفاده از روش‌های سریع‌تر، جدیدتر به جز کشت‌های معمول را الزامی می‌سازد. جهت اثبات نقش عفونت پنوموککی در مبتلایان به عفونت تنفسی فوقانی علاوه بر استفاده از روش استاندارد طلایی کشت، می‌توان از روش‌های غیر مستقیم مانند جستجوی آنتی‌ژن پنوموکک در ادرار و یا جستجوی رد پای عفونت اخیر پنوموککی مانند تعیین سطح آنتی‌بادی اختصاصی پنومولیزین به روش سرولوژی در بیماران بهره برد. در بیماران مبتلا به عفونت‌های تنفسی غیر بیمارستانی، سطح آنتی‌بادی بر علیه پنومولیزین با مقادیر بسیار ناچیز ۵۲۵pg/ml حساسیت (۸۷٪) و ویژگی (۸۲٪) مناسبی جهت تشخیص و افتراق عفونت پنوموککی بین بیماران و گروه کنترل سالم داشت. این آنتی‌بادی در مبتلایان به عفونت تنفسی در مقایسه با کودکان سالم به‌طور واضحی بالاتر تقریبا دو برابر (p=۰/۰۰۰۱) و وجود آن بسیار به نفع عفونت پنوموککی در بیماران بود. بنابراین جستجوی آنتی‌بادی بر علیه پنومولیزین در سرم مبتلایان به عفونت‌های تنفسی فوقانی در تشخیص عفونت‌های پنوموککی بسیار با ارزش است مشروط به اینکه این تست به‌طور هم‌زمان به‌روش استاندارد طلایی کشت و نیز تعیین آنتی‌ژن پنوموککی در ادرار افزوده گردد.

References

1. Wardlaw T, Salama P, Johansson EW, Mason E. Pneumonia: the leading killer of children. *Lancet* 2006;368(9541):1048-50.
2. American Academy of Pediatrics. Subcommittee on Management of Sinusitis and Committee on Quality Improvement. Clinical practice guideline: management of sinusitis. *Pediatrics* 2001;108(3):798-808.
3. Arroyo-Sánchez A. Nosocomial sinusitis in the intensive care unit: incidence, clinical characteristics and evolution. *Med Intensiva* 2007;31(4):179-83.
4. O'Brien KL, Nohynek H; World Health Organization Pneumococcal Vaccine Trials Carriage Working Group. Report from a WHO Working Group: standard method for detecting upper respiratory carriage of Streptococcus pneumoniae. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22(2):e1-11.
5. Hamer DH, Egas J, Estrella B, MacLeod WB, Griffiths JK, Sempértegui F. Assessment of the Binax NOW Streptococcus pneumoniae urinary antigen test in children with nasopharyngeal pneumococcal carriage. *Clin Infect Dis* 2002;34(7):1025-8.
6. Kobashi Y, Yoshida K, Miyashita N, Niki Y, Matsushima T. Evaluating the use of a Streptococcus pneumoniae urinary antigen detection kit for the management of community-acquired pneumonia in Japan. *Respiration* 2007;74(4):387-93.
7. Weatherall C, Paoloni R, Gottlieb T. Point-of-care urinary pneumococcal antigen test in the emergency department for community acquired pneumonia. *Emerg Med J* 2008;25(3):144-8.
8. Musher DM, Phan HM, Baughn RE. Protection against bacteremic pneumococcal infection by antibody to pneumolysin. *J Infect Dis* 2001;183(5):827-30.
9. Korppi M, Leinonen M, Ruuskanen O. Pneumococcal serology in children's respiratory infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008;27(3):167-75.
10. Soininen A, Lahdenkari M, Kilpi T, Mäkelä PH, Käyhty H. Antibody response to pneumococcal capsular polysaccharides in children with acute otitis media. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21(3):186-92.
11. Simell B, Korkeila M, Pursiainen H, Kilpi TM, Käyhty H. Pneumococcal carriage and otitis media induce salivary antibodies to pneumococcal surface adhesin a, pneumolysin, and pneumococcal surface protein a in children. *J Infect Dis* 2001;183(6):887-96.
12. Huo Z, Spencer O, Miles J, Johnson J, Holliman R, Sheldon J, et al. Antibody response to pneumolysin and to pneumococcal capsular polysaccharide in healthy individuals and Streptococcus pneumoniae infected patients. *Vaccine* 2004;22(9-10):1157-61.
13. Laine C, Mwangi T, Thompson CM, Obiero J, Lipsitch M, Scott JA. Age-specific immunoglobulin g (IgG) and IgA to pneumococcal

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-14]

protein antigens in a population in coastal kenya. *Infect Immun* 2004;72(6):3331-5.
14. Soininen A, Pursiainen H, Kilpi T, Käyhty H. Natural development of antibodies to pneumococcal capsular polysaccharides depends on the serotype: association with pneumococcal carriage and acute otitis media in young children. *J Infect Dis* 2001;184(5):569-76.
15. Barati M, Noorbakhsh S, Tabatabaei A, Taj FE. Adenovirus, influenza virus A, B and respiratory syncitial virus infection in children. *Int J Inf Dis* 2008;12(Supp1):e66.
16. Noorbakhsh S, Rimaz Sh. Frequancy of RSV and clinical presentation in children with acute respiratory infection in Rasul hospital. *Iranian Uni Med J* 2004;44(Suppl 2):1051-6. [Persian]
17. Barati M, Noorbakhsh S, Tabatabaei A, Ebrahimi Taj F, Talaebi T. Study of Adenovirus by IFA in nasopharyngeal secretion of children. *Ardebil Uni Med J* 2009;8(2):132-5. [Persian]
18. Noorbakhsh S, Brati M, Tabatabae A, Ebrahimi Taj F, Keshavarz Roohi M. Frequency of influenza A and B in pharyngeal secretion of children with upper respiratory infection. *Med Lab J* 2007;1(2):3-8.
19. Noorbakhsh S, Arzpeima S, Moradi M, Kohpayezadeh J. Comparative study of conventional blood culture with BACTEC medium for diagnosis of bacterial infections in pediatric ward of Rasul hospital. *Iranian Inf Trop Dis J*;16(3);133-5. [Persian]
20. Barati M, Noorbakhsh S, Bageri Hoseini H, Mortazavi HR. BACTEC medium: a useful method for detection of microorganisms in sterile body fluids .*TUMJ* 2008;66(5):315-320
21. Noorbakhsh S, Arzpeima S, Shenasa M, Rafinejad M. Determination the penicillin resistant pneumococcal colonization rate in children day care center. *Iran Uni Med J* 2000;27(8):9-12.
22. Bakhshaee M, Ghazvini K, Naderi HR, Zamanian A, Haghighi J, Boghrabadian M. The prevalence of nasopharyngeal streptococcal pneumonia carriers in Mashhad day care children and their antibiotic resistance pattern. *Iranian J Otorhinolaryng* 2006;18(45):119-26.
23. Khotayi Q, Ashtiani MT, Makki N, Shekarabi D. Pneumococcal nasopharyngeal colonization during the first days of antibiotic treatment in pediatric patients. *Iranian J Pediatr* 2002;12(3):45-8.
24. Sørensen UB, Henrichsen J. C-polysaccharide in a pneumococcal vaccine. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand C* 1984;92(6):351-6.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-14]

Tehran University Medical Journal; Vol. 68, No. 8, Nov 2010: 451-458

Serum pneumolysin antibody and urinary pneumococcal antigens (Binax) level in children with upper respiratory tract infection *versus* normal controls

Samileh Noorbakhsh MD.[1*]
Mohammad Farhadi MD.[2]
Farideh Ebrahimi Taj MD.[3]
Zahra Hojaji MD.[3]
Azardokht Tabatabaei MSc.[4]

1- Department of Pediatric Infectious Disease, Research Center of Pediatric Infectious Diseases, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2- Department of ENT, Head and Neck & Surgery Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Department of Pediatric, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
4- Department of Microbiology, Research Center of Pediatric Infectious Diseases, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

*Corresponding author: Iran University of Medical Sciences, Research center of Pediatric infectious diseases, 4th floor Hazrat Rasul Hospital, Niayesh St., Satarkhan Ave., Tehran, 14455 Iran.
Tel: +98-21- 66525328
email: Samileh_noorbakhsh@yahoo.com

Received: July 31, 2010 Accepted: September 06, 2010

Abstract

***Background*:** *Streptococcus pneumoniae* is a common cause of respiratory infection. Pneumococcal upper respiratory tract infection (URTI) in children is seldom bacteremic. Determination the prevalence of *S.pneumoniae* infections in children with URTI using rapid urinary antigen test (BINAX now) and titration of serum pneumolysin antibody (added to conventional culture) was the object of this study.

***Methods*:** A cross sectional, case-control study done in ENT & pediatric departments of Rasoul Hospital in Tehran, Iran, (2008 -2010) upon 133 cases with upper respiratory tract infection (otitis media, sinusitis and tracheitis). The nosocomial infection omitted in first step. 60 remaining cases followed for *S.pneumoniae* infection by culture and rapid urinary antigen test (Binax Now). Serum pneumolysin antibody titers compared between 45 cases and 66 controls.

***Results*:** Positive culture (*S.pneumoniae*, *H.influenza*) obtained in 4/60 URTI cases. Positive urinary *S.pneumoniae* antigen detected in 50% (30/60) of cases and 6% (4/66) of controls (p=0.01). The pneumolysin antibody level with cut-off level 525pg/ml was higher in URTI cases than controls (982±441 *Vs.* 525±42, p<0.0001). Area under the ROC curve for pneumolysin antibody was 0.923 (95%CI 0.86-0.97, p<0.0001) and had 87% sensitivity and 82% specificity for differentiation between cases and controls.

Conclusions: The high pneumolysin antibody level in cases with URTI strongly indicates the pneumococcal infection. Pneumolysin antibody level even in little amounts (525pg/ml) with 87% sensitivity and 82% specificity is a suitable test for diagnosis of pneumococcal infection in children with URTI, but this test should be added to conventional culture (gold standard) and rapid urinary antigen test.

Keywords: Streptococcus pneumoniae, S. pneumonia urinary antigen test, BINAX, pneumolysin, Upper respiratory tract infection.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-14]