View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by shahrekord university of medical scinces

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۷، شماره ۱/ فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۴/ ۵۰-۴۱

مقاله پژوهشی

شیوع سروتیپ های *هموفیلوس آنفلوآنزا* در کودکان سالم ۱ تا ۵ ساله مراجعه کننده به کلینیک امام علی (ع) شهرکرد در سال ۱۳۹۱

ابوالفضل خوشدل[۱]، کرمعلی کثیری[۲*]، سلیمان خیری[۱]، عباس دوستی[۳]، جواد فدایی[۴]

[۱]مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [۲]گروه اطفال، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [۳]مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [۴]مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت:۹۳/٤/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/٦

چکیده:

زمینه و هدف: ***هموفیلوس آنفلوآنزا*** **یکی از عوامل بیماری زای مهم در سیستم تنفسی بوده که می‌تواند باعث عوارض متعدد به ویژه در کودکان شود. این مطالعه با هدف تعیین شیوع سروتیپ های *هموفیلوس آنفلوآنزا* در مخاط حلق کودکان سالم مراجعه کننده به کلینیک امام علی (ع) شهرکرد انجام شده است.**

روش بررسی: **در این مطالعه توصیفی- تحلیلی، ۳۷۸ نمونه حلقی به صورت تصادفی از کودکان ۱ تا ۵ سال مراجعه کننده به کلینیک امام علی شهرکرد در سال ۱۳۹۱ گرفته و با دو روش کشت و PCR بررسی گردید. سروتیپ کل نمونه های مثبت با روش PCR بررسی گردید.**

یافته ها: **در این مطالعه ٤۲ مورد (۱۱/۱ درصد) حامل *هموفیلوس آنفلوآنزا* بودند (فاصله اطمینان ۹۵ درصد) که در بین آن ها ۳٤ مورد بدون طبقه بندی و ۸ مورد کپسول دار بود. در میان انواع کپسول دار ٤ مورد سروتیپ f، ۲ مورد سروتیپ b و ۲ مورد سروتیپ d داشتند. بین شیوع *هموفیلوس آنفلوآنزا* با وجود برادر یا خواهر زیر ۵ سال (P=۰/۰٤٤) و تحصیلات پدر (P=۰/۰٤۱) ارتباط معنی دار آماری دیده شد.**

نتیجه گیری: **نتایج این مطالعه نشان داد که سروتیپ غالب نوع بدون طبقه بندی (بدون کپسول) می باشد. علی رغم شیوع بیشتر سروتیپ نوع f، وفور سروتیپ b به عنوان یک از مهمترین عوامل تهاجمی در کودکان حامل باکتری در این مطالعه، لزوم توجه بیشتر مسئولین بهداشتی- درمانی نسبت به این عامل بیماری زا را خاطر نشان می نماید.**

واژه های کلیدی: **شیوع، *هموفیلوس آنفلوآنزا*، کودکان، سروتیپ.**

مقدمه:

هموفیلوس آنفلوآنزا یکی از عوامل بیماری زای مهم در سیستم تنفسی می باشد که می تواند باعث عفونت های حاد گوش میانی، سینوزیت، پنومونی و حملات حاد برونشیت گردد. امروزه بروز مقاومت و یا کاهش حساسیت نسبت به آنتی بیوتیک‌ها در بسیاری از سویه‌های این ارگانیسم مشاهده می‌شود (۱،۲). این باکتری، به دو گروه قابل طبقه بندی که دارای کپسول پلی ساکاریدی است و گروه غیر قابل طبقه بندی که فاقد کپسول است تقسیم بندی می شود. گروه دارای کپسول به شش سروتیپ از a تا f طبقه بندی می شود که از بین این سروتیپ ها، اهمیت بالینی نوع b از بقیه بیشتر است (۳،۴).

عفونت های *هموفیلوس آنفلوآنزا* بیشتر در کودکان و نوزادان دیده می شود و عوارضی همچون عفونت خون، منتژیت، پنومونی، اپیگلوتیت و عوارض ناخوشایند دیگر ایجاد کرده که این عوارض بیشتر در

نویسنده مسئول: شهرکرد- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد- گروه اطفال- تلفن: ۰۹۱۳۲۳۸۲۱۱۲٦، E-mail: kasiri207@yahoo.com

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 9:29 +0430 on Saturday August 26th 2017

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 9:29 +0430 on Saturday August 26th 2017

اثر سویه های سروتیپ b مشاهده می شود. لازم به ذکر است که سویه های بدون کپسول خاصیت تهاجمی کمتری دارند (۵). شیوع این عامل بیماری زا در فصل پاییز و بهار دیده می شود و در پسرها کمی بیشتر است. بیماری در ۹۰ درصد موارد در کودکان زیر ۵ سال و بطور عمده در کودکان زیر ۲ سال رخ می دهد. نسبت حمله سالیانه بیماری تهاجمی ۶۴ تا ۱۲۹ در هر صد هزار کودک زیر ۵ سال است.

هموفیلوس آنفلوآنزا بخشی از فلور طبیعی تنفسی در بین ۶۰ تا ۹۰ درصد کودکان سالم است (۶). مطالعات صورت گرفته در آسیا، شیوع کمتر در حد یک دهم تا یک سی ام ایالات متحده را نشان می دهد که البته ممکن است ناشی از روش های کشت یا کاربرد آنتی بیوتیکی باشد که منجر به تغییر فلور حلق گردیده است (۷). راه انتقال در اکثر موارد به دلیل تماس مستقیم با قطرات تنفسی از راه سرفه و عطسه می باشد. فاکتورهای اجتماعی و اقتصادی شامل مراقبت از کودک در خارج از منزل، داشتن فرزند دیگر در سن ابتدایی و یا کمتر، دوره کوتاه تغذیه با شیر مادر و سیگار کشیدن والدین نیز مؤثر است (۸،۹).

واکسیناسیون سروتیپ b *هموفیلوس آنفلوآنزا* منجر به کاهش بیماری‌های تهاجمی در کشورهای استفاده کننده از واکسن گردیده است. در ایران هنوز واکسیناسیون سروتیپ b *هموفیلوس آنفلوآنزا* شروع نشده است. این مطالعه با هدف تعیین میزان شیوع *هموفیلوس آنفلوآنزا* در حلق حاملین ۵-۱ سال و مشخص کردن سروتیپ‌های *هموفیلوس آنفلوآنزا* انجام شده است که می‌تواند در مقابله با این بیماری خطرناک کاربرد داشته باشد.

روش بررسی:

در این مطالعه توصیفی- تحلیلی، ۳۷۸ نمونه حلقی به صورت تصادفی از کودکان ۱ تا ۵ سال مراجعه کننده به کلینیک امام علی شهرکرد در سال ۱۳۹۱ گرفته شد. قبل از جمع آوری داده ها، موافقت والدین کودکان گرفته شد. از حلق کودکان در صورت نداشتن بیماری زمینه ای از قبیل بیماری های نقص سیستم ایمنی، دیابت، سیستیک فیبروزیس، نداشتن سابقه عفونت در یک ماه اخیر و نداشتن سابقه مصرف آنتی بیوتیک در سه ماه گذشته با استفاده از سواب استریل نمونه برداری انجام و بر روی محیط کشت انتخابی مناسب تلقیح شد. برای آماده نمودن محیط کشت از محیط کشت برین هارت انفوزیون آگار حاوی ۶٪ خون گوسفندی دفیبرینه استفاده شد. پس ازسرد شدن محیط کشت آنتی بیوتیک وانکومایسین به میزان ۵ µg/ml، کلیندامایسین به میزان ۱ µg/ml و سیتراسین به میزان ۳۰۰ µg/ml به محیط اضافه گردید تا محیط فقط برای رشد *هموفیلوس آنفلوآنزا* انتخابی گردد. محیط کشت تلقیح داده شده با نمونه ها پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در داخل انکوباتور دی اکسید کربن با غلظت ۵ درصد از نظر رشد *هموفیلوس آنفلوآنزا* مورد بررسی قرار گرفتند. برای این منظور در آزمایشگاه پلیت های کشت شده با استفاده از ذره بین از نظر رشد کلنی های با ظاهر مشابه *هموفیلوس آنفلوآنزا* با روش استاندارد ارزیابی شد. در این راستا جهت تأیید حضور *هموفیلوس آنفلوآنزا* ابتدا از کلنی های ظاهر شده با خصوصیات ظاهری هموفیلوس آنفلوانزا کشت مجدد تهیه گردید و اسمیر تهیه شد و پس از رنگ آمیزی گرم مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفت و سپس بر اساس خصوصیات میکروسکوپی باکتری، ظاهر کلونی همه موارد مشکوک با تست PCR با سوش کنترل (ATCC1766) آزمایش و موارد قطعی جدا گردید (۱۰). به منظور افزایش حساسیت مطالعه، کلیه نمونه های حلقی گرفته شده با سواپ اعم از اینکه در کشت مشکوک به هموفیلوس آنفلوانزا بودند یا نبودند، مورد آزمایش PCR قرار گرفتند (۱۱). استخراج DNA از نمونه های کشت باکتریایی و سواب های تهیه شده از فارنکس با استفاده از کیت استخراج DNA ساخت شرکت سیناژن

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 9:29 +0430 on Saturday August 26th 2017

ایران (DNPTM Kit) به شماره کاتالوگ DN8115C، انجام شد.

پس از بررسی های فراوان در سایت های اینترنتی و مقالات مربوط، توالی پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق مشخص شدند (جدول شماره ۱) (۱۲،۱۳). پرایمرهای a تا f هر یک تعیین کننده نوع سروتیپ *هموفیلوس آنفلوانزا* می باشد. جفت پرایمر H.inf-F و H.inf-R برای تشخیص مولکولی گونه *هموفیلوس آنفلوانزا* در نمونه های مورد نظر به کار گرفته شد. بعد از تعیین گونه *هموفیلوس آنفلوانزا*، PCR با تک تک پرایمرهای a و b و c و d و e و f بطور جداگانه بر روی ۴۲ نمونه مثبت گونه *هموفیلوس آنفلوانزا* انجام گردید که در نهایت ۸ زیر گونه (سروتیپ) کپسول دار جدا گردید و ۳۴ نمونه دیگر که با هیچکدام از پرایمرهای a و b و c و d و e و f واکنش ندادند، به عنوان بدون طبقه بندی در نظر گرفته شدند.

جدول شماره ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت تشخیص مولکولی و تعیین نوع سوتیپ *هموفیلوس آنفلوانزا*

توالی پرایمر	سروتیپ
a-F: 5’- CTACTCATTGCAGCATTTGC -3’	a
a-R: 5’- GAATATGACCTGATCTTCTG -3’	
b-F: 5’- GCGAAAGTGAACTCTTATCTCTC -3’	b
b-R: 5’- GCTTACGCTTCTATCTCGGTGAA -3’	
c-F: 5’- TCTGTGTAGATGATGGTTCA -3’	c
c-R: 5’- CAGAGGCAAGCTATTAGTGA -3’	
d-F: 5’- TGATGACCGATACAACCTGT -3’	d
d-R: 5’- TCCACTCTTCAAACCATTCT -3’	
e-F: 5’- GGTAACGAATGTAGTGGTAG -3’	e
e-R: 5’- GCTTTACTGTATAAGTCTAG -3’	
f-F: 5’- GCTACTATCAAGTCCAAATC -3’	f
f-F: 5’- CGCAATTATGGAAGAAAGCT -3’	
H.inf-F: 5’- CGTTTGTATGATGTTGATCCAGAC -3’	H. influenzae
H.inf-R: 5’- TGTCCATGTCTTCAAAATGATG -3’	

پرایمرهای a تا f هر یک تعیین کننده نوع سروتیپ هموفیلوس و جفت پرایمر H.inf-F و H.inf-R برای تشخیص مولکولی گونه هموفیلوس آنفلوانزا در نمونه های مورد نظر به کار گرفته شد (۱۳،۱۲).

تکثیر DNA توسط مخلوط واکنش µl ۲۵ شامل ۲/۵ میکرولیتر از DNA ی الگو، ۰/۲ میکرومول از هر پرایمر، ۲۰۰ میکرومول dNTP Mix، ۱/۵ میکرومول $MgCl_2$ و ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR و ۱ واحد از آنزیم Taq DNA Polymerase انجام شد. سپس نمونه ها در دستگاه ترموسایکلر (Mastercycler Gradient, Eppendorf, Germany) قرار داده شدند و برنامه دمایی به این صورت که یک سیکل آغازین ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، سپس ۳۰ سیکل دمایی به ترتیب ۹۴ درجه سانتیگراد (به مدت ۱ دقیقه)، ۶۰ درجه سانتیگراد (به مدت ۱ دقیقه) و ۷۲ درجه سانتیگراد (به مدت ۱ دقیقه) و یک مرحله نهایی ۷۲ درجه سانتیگراد (به مدت ۵ دقیقه) تنظیم گردید. لازم به ذکر است، در این مطالعه بر اساس شیوع *هموفیلوس آنفلوآنزا* که در کتب مرجع و سایر مطالعات حدود ۴۰ درصد ذکر گردیده بود، ۳۷۰ نمونه تعیین گردید. داده های حاصل از کشت و PCR نمونه ها و اطلاعات حاصل با نرم افزاری آماری SPSS با آزمون آماری chi-square و t مستقل مورد تحلیل قرار گرفت.

یافته ها:

در مجموع ۳۷۸ کودک بین ۱ تا ۵ سال با میانگین سنی ۱/۵۷±۲/۷۹ سال بررسی شدند. یافته های حاصل از اطلاعات شخصی نشان داد که از نظر سن کودکان شرکت کننده در مطالعه، ۱۲۰ نفر (۳۱/۷

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 9:29 +0430 on Saturday August 26th 2017

درصد) دارای سن ۱ سال، ۵۷ نفر (۱۵/۱ درصد) سن ۲ سال، ۶۵ نفر (۱۷/۲ درصد) سن ۳ سال، ۴۴ نفر (۱۱/۶ درصد) سن ۴ سال و ۸۸ نفر (۲۳/۳ درصد) سن ۵ سال داشتند. در مورد تحصیلات پدر، بیشترین فراوانی مربوط به تحصیلات در حد زیر دیپلم ۲۰ نفر (۱۷/۵ درصد) بود و بیشترین فراوانی مرتبط با تحصیلات مادر، تحصیلات دیپلم با تعداد ۱۷ نفر (۱۰/۴ درصد) بود. ۱۹۷ نفر (۵۲/۱ درصد) پسر و ۱۸۱ نفر (۴۷/۹ درصد) دختر بودند. تعداد اعضاء خانواده کودکان مورد مطالعه از ۲ نفر تا ۸ نفر با میانگین ۰/۸۶±۳/۷۵ بود. ۷۳ نفر (۱۹/۳ درصد) دارای کودک زیر ۵ سال دیگری در خانواده خویش بودند. از نظر تغذیه دوران شیرخوارگی، ۲۹۹ نفر (۷۹/۱ درصد) شیر مادر مصرف کرده بودند. ۱۳ نفر (۳/۴ درصد) شیر خشک و بقیه ترکیبی از شیر خشک و شیر مادر مصرف نموده بودند. ۱۲۴ نفر (۳۲/۸۱ درصد) دارای پدرسیگاری بودند؛ در مقابل، هیچکدام از مادران کودکان مورد مطالعه سیگاری نبودند. از نظر وزن بدو تولد بیشترین فراوانی (۷۸/۸ درصد) مربوط به وزن بین ۲۵۰۰ تا ۴۰۰۰ گرم در بدو تولد بود (جدول شماره۲).

جدول شماره ۲: فراوانی موارد مثبت *هموفیلوس آنفلوآنزا* بر حسب متغیرهای مورد بررسی

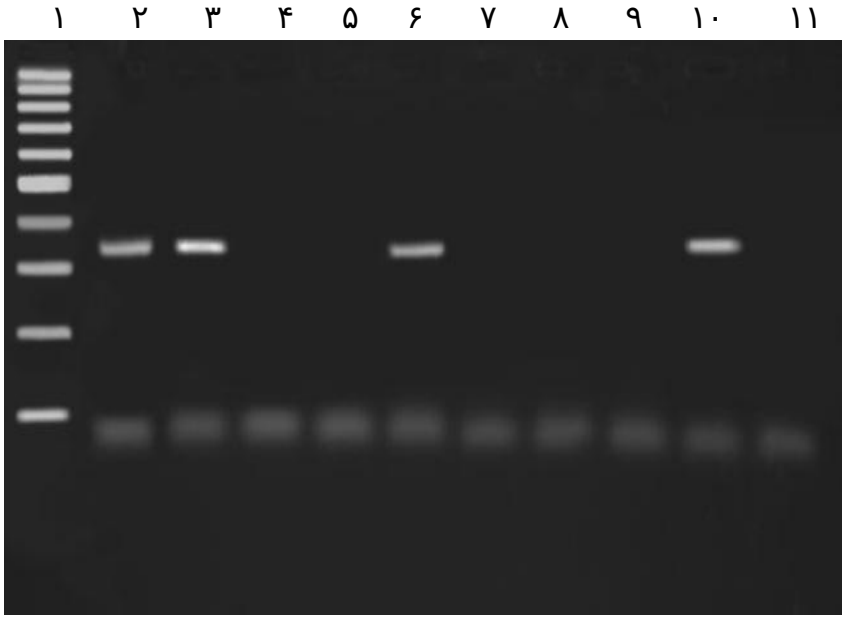
متغیرها	سطح متغیر	تعداد مثبت دیده شده	شیوع (درصد)	P
جنس	پسر	۲۳	۱۱/۷	۰/۷۱۶
	دختر	۱۹	۱۰/۵	
برادر یا خواهر زیر ۵ سال	دارد	۱۳	۱۷/۸	۰/۰۴۴
	ندارد	۲۹	۹/۵	
وضعیت سیگاری بودن پدر	سیگاری	۱۸	۱۴/۵	۰/۱۴۹
	غیرسیگاری	۲۴	۹/۵	
تحصیلات پدر	بیسواد	۰	۰	۰/۰۴۱
	زیر دیپلم	۲۰	۱۷/۵	
	دیپلم	۱۸	۱۰/۲	
	بالای دیپلم	۴	۴/۹	
تحصیلات مادر	بیسواد	۰	۰	۰/۵۸۱
	زیر دیپلم	۱۵	۱۴/۲	
	دیپلم	۱۷	۱۰/۴	
	بالای دیپلم	۱۰	۹/۹	
تغذیه دوران شیرخوارگی	شیر مادر	۳۲	۱۰/۷	۰/۸۳۶
	شیر خشک	۲	۱۵/۴	
	مخلوط	۸	۱۲/۱	
وزن موقع تولد	کمتر از ۱۵۰۰ گرم	۱	۱۶/۷	۰/۳۶۹
	۲۵۰۰-۱۵۰۰ گرم	۵	۱۵/۲	
	۴۰۰۰-۲۵۰۰ گرم	۳۴	۱۰/۲	
	بالای ۴۰۰۰ گرم	۲	۲۸/۶	

بعد از بررسی میکروبی بر روی پلیت های کشت میکروبی و گرفتن کشت مجدد از موارد محتمل نهایتاً با استفاده از PCR بر روی نمونه های حاصل از کشت ۲۸ مورد قطعی در بین کشت ها تأیید گردید. به دلیل افزایش حساسیت تشخیصی مطالعه از کلیه نمونه های گرفته شده با سواپ حلقی اعم از اینکه کشت میکروبی مثبت داشتند یا نداشتند، PCR با سوش کنترلی *هموفیلوس آنفلوآنزا* انجام گردید که علاوه بر ۲۸ مورد (۷/۴٪) کشت مثبت ۱۴ مورد (۳/۷٪) دیگر هم PCR مثبت داشتند. تعداد کل نمونه های مثبت نهایتاً ۴۲ مورد بود؛ لذا شیوع کلی دارا بودن سروتیپ های مختلف *هموفیلوس آنفلوآنزا* در جمعیت مورد مطالعه برابر با ۱۱/۱ درصد با فاصله اطمینان ۹۵ درصدی برابر با ۱۴/۳، ۷/۹ درصد بدست آمد.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 9:29 +0430 on Saturday August 26th 2017

با توجه به مقادیر به دست آمده، شیوع *هموفیلوس آنفلوآنزا* با وجود برادر یا خواهر زیر ۵ سال (P=۰/۰۴) و با سطح تحصیلات پدر ارتباط آماری معنی داری را نشان داد (P=۰/۰۴)؛ ولی جنسیت، وضعیت سیگاری بودن پدر، سطح تحصیلات مادر، تغذیه دوران شیرخوارگی، سن، تعداد افراد خانواده، وزن موقع تولد با شیوع *هموفیلوس آنفلوآنزا* در مخاط حلق کودکان شرکت کننده از نظر آماری ارتباط معنی داری نداشتند (جدول شماره ۲).

در مرحله بعد تعداد ۴۲ نمونه مثبت *هموفیلوس آنفلوآنزا* از لحاظ انواع مختلف سروتیپ های a و b و c و d و e و f با PCR بررسی گردید. مواردی که هیچکدام از سروتیپ ها نبودند به عنوان بدون طبقه بندی (Nontypeable) در نظر گرفته شدند. مجموعاً تعداد ۳۴ نمونه (۸۰/۹۵٪) Nontypeable و تعداد ۸ نمونه (۱۹/۰۵٪) کپسول دار بودند. در بین نمونه های کپسول دار شایعترین سروتیپ نوع f با تعداد ۴ مورد (۹/۵۲٪) و بعد از آن ۲ مورد سروتیپ b (۴/۷۶٪) و ۲ مورد سروتیپ d (۴/۷۶٪) بودند. در بین نمونه های کپسول دار هیچ موردی از سروتیپ a و c و e مشاهده نگردید (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۲: تصویر ژل الکتروفورز تشخیص مولکولی *هموفیلوس آنفلوانزا* در نمونه های سواب گلو

ستون ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی. ستون ۲: کنترل مثبت (باکتری هموفیلوس آنفلوانزا ATCC شماره ۱۷٦٦). ستون ۳: کنترل مثبت باکتری هموفیلوس آنفلوانزا ATCC شماره ۱٦۲۳). ستون ٤: کنترل منفی (بدون DNA). ستون های ۵ تا۱۰ نمونه های مورد آزمایش می باشند. ستون ٦ و ۱۰ نشاندهنده باند ۳٤۳ جفت بازی بوده و مثبت هستند و ستون‌های ۵، ۷، ۸ و ۹ از نظر حضور هموفیلوس آنفلوانزا منفی می‌باشند.

بحث:

این مطالعه با هدف تعیین وفور سروتیپ های *هموفیلوس آنفلولانزا* در حلق حاملین سالم و در گروه سنی ۵-۱ ساله صورت گرفت. در این مطالعه میزان حامل بودن ۴۲ مورد (۱۱/۱ درصد) بدست آمد. مطالعات انجام شده در کشورهای اروپای غربی و ایالات متحده حامل بودن حدود ۷۰-۴۰ درصد را در کودکان نگهداری شده در مراکز نگهداری را نشان می دهد (۱۶-۱۴). نتایج حاصل از مطالعه ای با هدف تعیین شیوع *هموفیلوس آنفلوآنزا* در نازوفارنکس کودکان سالم، نشان داد که شیوع این بیماری در شهر

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 9:29 +0430 on Saturday August 26th 2017

مشهد ۱۰/۷۶ درصد بدست آمد که به یافته های مطالعه ی حاضر نزدیک می باشد (۱۷). البته نمونه گیری در محل های تجمع کودکان می تواند بطور کاذب شیوع بالاتری نسبت به متوسط شیوع در جامعه نشان دهد. در مطالعات انجام شده در کشورهای آسیایی شیوع کمتر و در حد یک دهم تا یک سی ام میزان شیوع در کشورهای غربی بوده است (۲۰-۱۸). مقدار کمتر شیوع در کشورهای آسیایی شاید به دلیل روش های نمونه گیری و تأیید میکروبی با حساسیت کمتر در مطالعات این کشورها باشد. ولی با توجه به تعدد مطالعات مختلف که در این کشورها صورت گرفته است و نتایج عمدتاً با شیوع کمتر حاملین می تواند به دلیل تفاوت های اپیدمیولوژیک بیماری و تفاوت های ژنتیکی و نحوه زندگی متفاوت این مناطق باشد. ضمن این که در مطالعات مربوط به کشورهای آفریقایی عمدتاً میزان بالاتری به نسبت کشورهای آسیایی از حامل بودن کودکان گزارش شده است (۲۱،۲۲). مطالعاتی که در کشورهای اروپای غربی و ایالات متحده انجام شده است نشانگر کاهش میزان کلی حامل بودن *هموفیلوس آنفلوآنزا* بعد از کاربرد واکسن کنژوگه *هموفیلوس آنفلوآنزای* نوع b می باشد که این کاهش به طور بارز در میزان شیوع سروتیپ b در این جوامع می باشد (۱۶-۱۴). در مطالعاتی که در کشورهای مجاور کشور ما انجام شده است میزان شیوع در حدود ۲۰-۱۰ درصد می باشد که با مطالعه ی حاضر همخوانی دارد (۲۳،۲۴). عمده مطالعات انجام شده در دنیا و مطالعات کشور ما به بررسی حامل بودن در کودکان نگهداری شده در مهد کودک ها پرداخته اند. اگرچه دستیابی و نمونه گیری در این کودکان آسان تر می باشد؛ ولی می تواند باعث مخدوش شدن مطالعه بدلیل بالاتر رفتن کاذب تعداد حاملین به نسبت کودکان که در مهد کودک نگهداری نمی شوند، گردد. در این مطالعه، به طور تصادفی از همه کودکان اعم از این که در خانه یا مهد کودک نگهداری می شدند، نمونه گیری انجام شد که شاید علت نسبت کمتر حاملین باشد. در این مطالعه شیوع در پسرها ۱۱/۷ درصد و در دخترها ۱۰/۵ درصد بود که اگر چه در پسرها بالاتر بود ولی از نظر آماری تفاوت، معنی دار وجود نداشت. در بین عوامل مؤثر بر کلونیزاسیون *هموفیلوس آنفلوآنزا* شیوع بالاتر در جنس پسر ذکر گردیده است (۲۳). در پژوهشی هم که در مشهد بر روی کودکان سالم انجام گرفته بود، حضور باکتری در نازوفارنکس پسران، ۵۶ درصد و در دختران ۴۴ درصد به دست آمد که مشابه مطالعه کنونی، تعداد حاملین پسر نسبت به دختر بیشتر بوده است (۱۷).

از علل دیگر مؤثر بر کلونیزاسیون *هموفیلوس آنفلوآنزا*، وجود برادر یا خواهر زیر ۵ سال در خانه می باشد (۶،۹،۲۳). در مطالعه ی حاضر شیوع در کودکان دارای برادر یا خواهر زیر ۵ سال ۱۷/۸ درصد و در موارد عدم وجود برادر یا خواهر زیر ۵ سال در خانه، ۹/۵ درصد بود که از نظر آماری تفاوت معنی دار بود و این مسئله مطابق با سایر مطالعات می باشد.

یکی از عوامل مؤثر بر کلونیزاسیون *هموفیلوس آنفلوآنزا*، مصرف سیگار در والدین است (۶،۹). در مطالعه ی حاضر، خوشبختانه مادر سیگاری وجود نداشت؛ ولی در کودکان با پدر سیگاری شیوع ۱۴/۵ درصد و در کودکان با پدر غیر سیگاری ۹/۵ درصد بود و این دو از نظر آماری تفاوت معنی داری با هم نداشتند.

مطالعات بیانگر این مطلب است که از دیگر عوامل مؤثر بر شیوع بالاتر *هموفیلوس آنفلوآنزا* سطح اجتماعی و اقتصادی خانواده کودک و تحصیلات والدین می باشد (۶،۷،۲۰). در این مطالعه نیز، شیوع باکتری در بین کودکان سالم با افزایش تحصیلات پدر و مادر بطور معنی داری کاهش یافته است.

عامل دیگر، نحوه تغذیه دوران شیرخوارگی است. شیوع در شیر مادران خواران کمتر از شیر خشک خواران می باشد (۶،۷). در مطالعه ی حاضر، شیوع در شیر مادرخواران کمتر بود ۱۰/۷ درصد و در شیر خشک خواران بالاتر بود ۱۵/۴ درصد ولی از نظر آماری این دو تفاوت معنی داری نداشت.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 9:29 +0430 on Saturday August 26th 2017

در بررسی سروتیپ های بدست آمده در این مطالعه ۳۴ نمونه از ۴۲ نمونه (۸۰/۹۵ درصد)، *هموفیلوس آنفلوآنزا* از نوع بدون طبقه بندی (Nontypeable) بودند. این نسبت با کتب مرجع عفونی و سایر مطالعات هماهنگ است (۳،۲۵). در بین انواع کپسول دار در جوامعی که واکسیناسیون *هموفیلوس آنفلوآنزا* با سروتیپ (b) انجام نشده است، سروتیپ b شایع ترین سروتیپ می باشد (۲۶،۲۷) و در جوامع با واکسیناسیون، انواع دیگر سروتیپ ها به ویژه نوع e و f شایع ترین سروتیپ کپسول دار می باشد.

در این مطالعه، شیوع سروتیپ b، ۲ مورد از ۴۲ نمونه مثبت (۴/۷۶ درصد) بود که در کل جمعیت مورد مطالعه ۲ مورد از ۳۷۸ کودک نمونه گیری شده (۰/۵۲ درصد) می باشد. میزان شیوع سروتیپ b در مطالعه ی حاضر کمتر از مطالعات دیگر می باشد که شاید علت آن تعداد کم نمونه های سروتیپ شده باشد. البته مطالعاتی در جوامع بدون واکسن سروتیپ b *هموفیلوس آنفلوآنزا* هم وجود دارد که شیوع سروتیپ (b) پایین گزارش شده است. مثلاً در مطالعه ای که در کشور تایلند صورت گرفت، شیوع سروتیپ های b (۱/۱) درصد گزارش شده است (۲۸). در بررسی دیگری که در چین انجام شد، شیوع سروتیپ های b، (۱/۷) درصد (۲۵) و در مطالعات انجام گرفته در هنگ کونگ صفر گزارش شده است (۱۹).

در این مطالعه، شایع ترین سروتیپ نوع f با ۴ مورد از ۴۲ مورد مثبت *هموفیلوس آنفلوآنزا* ۹/۵۲ درصد بود که شیوع کلی آن از کل شرکت کنندگان در مطالعه ۴ مورد از ۳۷۸ کودک ۱/۰۴ درصد به دست آمد. در بعضی مطالعات انجام شده سروتیپ f گزارش شده است. مثلاً در مطالعه ای در فرانسه ۳/۶ درصد، در پژوهشی در آمریکا ۰/۸ درصد و بررسی که در کشور فرانسه انجام گرفته بود، ۰/۴ درصد گزارش شده است (۱۴،۱۶،۲۹).

نتیجه گیری:

سروتیپ غالب نوع بدون طبقه بندی (بدون کپسول) می باشد. علی رغم شیوع بیشتر سروتیپ نوع f، وفور سروتیپ b به عنوان یک از مهم ترین مهمترین عوامل تهاجمی در کودکان حامل باکتری در این مطالعه، لزوم توجه بیشتر مسئولین بهداشتی- درمانی نسبت به این عامل بیماریزا را خاطر نشان می نماید. بررسی میزان شیوع *هموفیلوس آنفلوآنزا* و تعیین انواع آن می تواند در تدوین استراتژی های مقابله با این میکروب خطرناک اعم از ضرورت انجام واکسیناسیون به ویژه در سروتیپ نوع b و مداخلات دارویی مؤثر می تواند مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی:

مقاله حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی مصوب معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد با کد۱۲۴۹ می‌باشد و نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از حمایت‌های مالی این معاونت مراتب سپاس و قدردانی را داشته باشند. از واحد تحقیقات بالینی بیمارستان هاجر شهرکرد و سایر افرادی که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند، نهایت سپاس را داریم.

منابع:

1. Borderon JC. Haemophilus influenza: colonization and infection. J Arch Pediatr. 1995; 2(3): 249-54.

2. Hotomi M, Fujihara K, Sakai A, Billal DS, Shimada J, Suzumoto M, et al. Antimicrobial resistance of Haemophilus influenzae isolated from the nasopharynx of Japanese children with acute otitis media. Acta Otolaryngol. 2006; 126(3): 240-7.

3. Kelly DF, Moxon ER. Haemophilus influenzae type b conjugates vaccines. Immunol. 2004; 113(2): 163-74.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 9:29 +0430 on Saturday August 26th 2017

4. Morris SK, Moss WJ, Halsey N. Haemophilus influenza type b conjugate vaccine use and effectiveness. Lancet Infect Dis. 2008; 8(7): 435-43.
5. Ryan KJ, Ray CG. Sherris medical microbiology. 4th ed. New York: McGraw Hill; 2004.
6. Robert S. Daum. Haemophilus influenzae. In: Kliegmen RM, Stanton BF, Gem JW, Schor NF, Behrman RE. Textbook of pediatrics. 19th ed. Philadelphia: Saunders Pub; 2011.
7. Ward J. Haemophilus influenza. Demmler F, Sheldon J. Textbook of pediatric infectious disease. 5th ed. Philadelphia: Saunders Pub. 2004; 1636-50.
8. Center for Disease Control and Prevention (CDC). 2012; Available at: http://www.cdc.gov/hi-disease/about/index.html.
9. Greenberg D, Givon-Lavi N, Broides A, Blancovich I, Peled N, Dagan R. The contribution of smoking and exposure to tobacco smoke to Streptococcus pneumoniae and Haemophilus influenzae carriage in children and their mothers. Clin Infect Dis. 2006; 42(7): 897-903.
10. Taghinezhad S, Soleimani M, Mohseni AH, Majidzadeh K. Design of Polymerase Chain Reaction (PCR) assay for molecular detection of Haemophilus influenzae bacterium. J Ilam Univ Med Sci. 2012; 20(4): 49-60.
11. Murry PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller M. Medical Microbiology. 4th ed. New York: Mosby; 2002:78-81.
12. Luong DC, Ishiwada N, Takeda N, Kohno Y. Serotypes of haemophylus influenza strains isolated from pediatrics patients with respiratory tract infection. Tohoku J Exp Med. 2004; 202(4): 245-54.
13. Kristensen K. Carriage and antibiotic susceptibility of Haemophilus influenzae type b and nontype b in Danish day- care attendee. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand. 1990; 98(1-6): 50-52.
14. Raymond J, Armand-Lefevre L, Moulin F, Dabernat H, Commeau A, Gendrel D, et al. Nasopharyngeal colonization by Haemophilus influenzae in children living in an orphanage. Pediatr Infect Dis J. 2001; 20(8): 779-84.
15. Stephenson WP, Doern G, Gantz N, Lipworth L, Chapin K. Pharyngeal carriage rates of Haemophilus influenzae, type b and non-b, and prevalence of ampicillin-resistant Haemophilus influenzae among healthy day-care children in central Massachusetts.. Am J Epidemiol. 1985; 122(5): 268-78.
16. Fontanols D, Bou R, Pons I, Savfeliu I, Dominguez A, Pineda V, et al. Prevalence of Haemophilus influenza carrier in the Catalonia preschool population. J Clin Microbiol Infect Dis. 2000; 19(4): 301-4.
17. Ghazvini K, Bakhshaee M, Naderi M, Zamanian A, Ghanaat J, Bagheri M. Prevalence and antimicrobial susceptibility of Haemophilus influenza among healthy children in Mashhad. Iran J Otorhinolaryngol. 2007; 19(48): 101-6.
18. Wang SR. Low T, Chou CY, Chen YY. Low rate of Nasophoryngeal carriage and high rate of ampicilinresiatancc for Haemophilus influenza among healthy children younger than 5 year old in northern Taiwan. J Microbial Immunol Infect. 2008; 41(1): 32-40.
19. Lai G, Zhang H, Ye L, Huang L, Lin M, Cao H, et al. Study on the status of oral pharyngeal carriage of Haemophilus influenzae in healthy preschool children in Fuzhou city. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. 2002; 23(2): 108-10.
20. Sekhar S, Chakrabarti A, Kumar R. Haemophilus inftuenzae colonization and its risk factor in children aged < 2 year in Northern India. Epidemial infect. 2009; 137(2): 156-60.
21. Castillo-Febres O, Lopez G, Ortegal F, Estopinan M, Casanova-Escalona L, Sanchez-Naveda M, et al. Oropharyngeal carriers in Venezuelan children in two child care settings, vaccinated or not with Haemophilus influenzae type b tetanus toxoid conjugate vaccine (PRP-T). Invest Clin. 2005; 46(1): 15-24.
22. Hussey GD, Coetzee G, Hitchcock J, van Schalkwyk E, van Wyk H, Kibel M. Carriage of Haemophilus influenzae in Cape Town children. S Afr Med J. 1994; 84(3): 135-7.
23. Oguzkaya-Artan M, Baykan Z, Artan C. Carriage rate of Haemophilus influenzae among preschool children in Turkey. Jpn J Infect Dis. 2007; 60(4): 179-82.
24. Torun MM, Namal N, Demirci M, Bahar H, Kocazeybek B. Pharyngeal carriage and antimicrobial resistance of Haemophilus influenzae in non-type-b-vaccinated healthy children attending day care centers in Turkey. Chemotherapy. 2007; 53(2): 114-7.

25. Wen QW, Tian GZ, Yan ZN. Investigation on the carrier for Haemophilus influenzae in healthy population in Shenzhen. Zhongguo Yi Miao He Mian Yi. 2009; 15(4): 355-7.
26. Bricks LF, Mendes CM, Lucarevschi BR, Oplustil CP, Zanella RC, Bori A, et al. Oropharyngeal colonization by Haemophilus influenzae in healthy children from Taubate (Sao Paulo), prior to the Haemophilus influenzae type B vaccination program in Brazil. Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo. 2004; 59(5): 236-43.
27. Williams EJ, Lewis J, John T, Hoe JC, Yu L, Dongol S, et al. Haemophilus influenzae type b carriage and novel bacterial population structure among children in urban Kathmandu, Nepal. J Clin Microbiol. 2011; 49(4): 1323-30.
28. Munsawaengsub C, Pltlkultang S. Factros Associated with oropharyngeal carrier of Haemophilus influenza and Antimicrobial Resistance in Healthy children Attending Day – care center of a Health promotion Hospital. J Public Health. 2010; 40(3): 281-90.
29. Dabernat H, Plisson-Saune MA, Delmas C, Seguy M, Faucon G, Pelissier R, et al. Haemophilus influenzae carriage in children attending French day care centers: a molecular epidemiological study. J Clin Microbiol. 2003; 41(4): 1664-72.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 9:29 +0430 on Saturday August 26th 2017

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2015 Apr, May; 17(1): 41-50.

Original article

The prevalence of serotypes of *Haemophilus influenzae* in healthy children 1 to 5 years referred to Imam Ali clinic of Shahrekord in 2012

Khoshdel A[1], Kasiri KA[2*], Kheiri S[1], Doosti A[3], Fadaee J[4]
[1]Clinical Biochemistry Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; [2]Pediatrics Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; [3]Biotechnology Research Center, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, I.R. Iran; [4]Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran.
Received: 8/Jul/2014 Accepted: 28/Oct/2014

Background and aims: *Haemophilus influenza* is one of the most important pathogens in the respiratory system that can cause several complications especially in children. So, this study was aimed to determine the prevalence of *Haemophilus influenza* serotypes in the pharyngeal mucosa of healthy children.
Methods: In this analytic- descriptive study, 378 pharyngeal samples were randomly selected from 1 to 5 years old children referred to Imam Ali Clinic in 2012. Samples were analyzed by two methods of culture and polymerase chain reaction (PCR). All the positive samples serotypes were evaluated by PCR.
Results: There was 42 (11.1%) positive numbers of *Haemophilus influenza* serotypes in the samples in this study (95% Confidence interval). 8 cases were encapsulated and 34 cases nonencapsulated among them. Among the encapsulated ones, 4 cases were serotype f, 2 cases were serotype b and 2 cases were serotype d. There was a significant relationship between the incidence of *Haemophilus influenza* and having brother or sister under 5 years old (p=0.044) and father's education (P=0.041).
Conclusion: the results of this study indicated that the nonencapsulated serotype has the highest frequency. The frequency of serotype b is one of the most important invasive serotype in carriers' children, although serotype f has more prevalence. Thus, the findings of this study emphasize that responsible managers need to pay more attention to these pathogens.

Keyword: Prevalence, Hemaphilus influenza, Children, Serotype**.**

Cite this article as: Khoshdel A, Kasiri KA, Kheiri S, Doosti A, Fadaee J. The prevalence of serotypes of Haemophilus influenzae in healthy children 1 to 5 years referred to Imam Ali clinic of Shahrekord in 2012. J Shahrekord Univ Med Sci. 2015; 17(1): 41-50.

[*]**Corresponding author:**
Pediatrics Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran, Tel: 00989133821126, E-mail:kasiri207 @yahoo.com

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 9:29 +0430 on Saturday August 26th 2017