sina-pub.ir

شیوع عفونت های بافت نرم و پوستی استافیلوکوکوس اورئوس در بیماران مبتلا به پمفیگوس

پمفیگوس ولگاریس یک بیماری تاولزایی خود ایمنی است که می تواند منجر به ناخوشی شدید و سپس مرگ شود. درمان ضد ایمنی پمفیگوس ولگاریس بیماران را مستعد عفونت می کند. هدف این مطالعه ارزیابی شیوع عفونت استافیلوکوکوس اورئوس و ژن PVL در بیماران با پمفیگوس مراجعه کننده به درمانگاه پوست می باشد. مواد و روش ها: این مطالعه توصیفی بر روی 196 بیمار پمفیگوس ولگاریس (119 مرد و 77 زن) مراجعه کننده به درمانگاه پوست بین 2014 و 2015 انجام شد. در این مطالعه، تشخیص پمفیگوس ولگاریس توسط الگوی ایمنو فلورسانس و بافت شناسی الگو های پوستی و تست سروم ایمنو فلورسنس غیر مستقیم انجام شد. داده ها از طریق یک پرسش نامه جمع اوری شدند. نتایج: 59.1 درصد بیماران پمفیگوس ولگاریس دارای عفونت استافیلوکوکوس اورئوس بودند. 49 نفر از 116 نفر مقاوم به متی سیلین بودند. ژن PVL در 25 نفر از 116 بیمار مثبت استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شد. نتیجه گیری: این اولین گزارش در خصوص عفونت استافیلوکوکوس اورئوس در بیماران پمفیگوس در ایران است. بیش از 40 درصد ایزوله ها مقاوم به متی سیلین بودند. ژن PVL حمل شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متیلی سیلین در این مطالعه بالا بود.

1- مقدمه

پمفیگوس به صورت گروهی از اختلالات تاول زای تهدید کننده حیات تعریف می شود ک منجر به به تشکیل تاول های بین پوستی در غشای موکوزی و پوست می شود(1-3).. چهار نوع پمفیگوس شامل پمفیگوس ولگاریس، پمفیگوس فولیسئوس، پمفیگوس ایگا و پمفیگوس پارانئوپلاستیک می باشند. نرخ وقوع بین 0و1 و 0.5 به ازای هر 100000 نفر در سال است. با این حال این نرخ در جمعیت های خاص گزارش شده است(4). ساکنان هند، جنوب شرق اسیا و خاور میانه بیشترین خطر ابتلا به پمفیگوس ولگاریس را دارند. پمفیگوس ولگاریس در مردان و زنان به یک میزان رخ می دهد. در بسیاری از مناطق جغرافیایی، پمفیگوس ولگاریس رایج تر از پمفیگوس فولسئوس است. با این حال در مناطق خاصی نظیر افریقای شمالی، ترکیه و امریکای جنوبی، شیوع پمفیگوس

sina-pub.ir

فولسئوس بیش از پمفیگوس ولگاریس است5). پمفیگوس ولگاریس و پمفیگوس فولیسئوس اختلالات تهدید کننده حیات است. اولنی درمان برای این بیماری ها گلوکوکورتوییید با و بدون سرکوب کننده های ایمنی ادجونت است. روش های درمانی و مراقبت پوست نیز خطر ابتلا را کاهش می دهد. امکان عفونت ثانویه باید در زمانی در نظر گرفته شود که زخم ها به درمان پاسخ ندهند و عفونت بایستی به طور مناسب در صورت تشخیص درمان شود.عفونت باکترایی به عنوان یک عامل پمفیگوس در نظر گرفته نشده است در حالی که دوز استافیلو کوکوس اورئوس به صورت عارضه درمان سرکوب و یا مهار ایمنی در نظر گرفته می شوتد. باکتری یک عامل عفونی فرصت طلب است زیرا بیماران پمفیگوس با درمان سرکوب ایمنی برای مدت زمان طولانی درمان می شوند. تشخیص اولیه هم زمان پمفیگوس و عفونت باکتریایی، به خصوص استلفیلو کوگوس ، به دلیل عوارض کشنده بیماری، بسیار مهم است. هدف این مطالعه بررسی شیوع عفونت استافیلو کوکوس و ژن PVL در بیماران مبتلا به پمفیگوس ولگاریس است.

2- مواد و روش ها

2-1 جمعیت مورد مطالعه و جمع اوری سویه ها: این مطالعه مقطعی در 338 بیمار مبتلا به عفونت بافت نرم وپوست مراجعه کننده به درمانگاه پوست رازی تهران انجام شد. بیماران با تشخیص بالاینی پمفیگوس ولگاریس با هیستئپاتولوژی سازگار شناسای شدند و یاتفه های فلورسنس ایمنی مستقیم موید تشخیص بالینی پمفیگوس ولگاریس است. در این مطالعه، تشخیص پمفیگوس ولگاریس توسط الگوی ایمنو فلورسانس و بافت شناسی الگو های پوستی و تست سروم ایمنو فلورسنس غیر مستقیم انجام شد. نمونه های استافیلو کوگوس بالینی که از بیماران پمفیگوس با بیماری پوستی جمع اوری شده بود، برای بررسی به ازمایشگاه میکرو بیولوز/یکی کاشان برای تایید تشخیص ارسال شدند. نمونه های عفونت بافتی پوست از بیماران جمع اوری شده و بر روی اگار نمک مانیتول و اگار خون گوسفند به مدت 24 تا 48 ساعت در 37 درجه کشت شدند.

2-2 شناسایی استافیلو کوگوس: همه سواب ها بر روی اگار مانیتول تلقیح شده و در 37 درجه انکوبات شدند. هیچ یک از کلونی های مشکوک بر روی اگار سویا کشت نشدند و ایزوله ها با ریخت شنسی به صورت استافیوکوکوس، و فعالیت کاتالاز، تست های DNase، تست های اسلاید و انعقاد ازاد پلاسمای خرگوش در لوله شناسایی شدند(11-12)

sina-pub.ir

2-3 تعیین مقاومت متی سیلین: مقاومت متی سیلین با استفاده از دو روش ارزیابی شدو. اولین روش ، روش انتشار دیسک با استفاده از اگار مولر هینتون بر طبق توصیه های موسسه استاندارد بالینی و ازمایشگاهی، دیسک سفوتوکسین 30 میکرو گرم و دیسک اکساسیلین 1 میکروگرم بود. دومین روش، واکنش زنجیره ای پلیمراز برای تشخیص ژن mecA می باشد.

2-4 آزمون حساسیت ضد میکروبی و تعیین MDR: مقاومت و حساسیت ضد میکروبی با روش انتشار دیسک با استفاده از اگار مولر هینتون و بر طبق توصیه های موسسه استاندارد های ازمایشگاهی تعیین شد. دیسک های زیر استفاده شدند: اگزاسیلین (G1)، پنی سیلین (1 گرم)، تریکوپلانین (30 گرم)، تتراسایکلین (30 گرم)، آزیترومایسین (15 گرم)، کلیندامایسین (2 گرم)، سفوتوکسین (30 گرم)، ازاسیون (30 گرم)، جنتامایسین (10 گرم)، لینزولید (30 گرم)، دپانمیسین (30 گرم)، آمیکاسین (30 گرم)، و سفازولین (30 گرم). سویه مرجع *S. aureus* ATCC 3359 به عنوان شاهد استفاده شد. نتایج بر طبق معیار های CLSI و پروتوکل شرکت به صورت حساس، متوسط و مقاوم در نظر گرفته شد. تعریف MDR در ایزوله های استافیلو کوگوس بر طبق سند بین المللی استاندارد جدید انجام شد. ایزوله ها به صورت مقاومت چند دارویی طبقه بندی شد به خصوص اگر آن ها مقاوم به بیش از سه داروی ضد میکروبی باشند

2.5 آماده سازی دی ان ای ژنومی:دی ان ای با رو ش جوشاندن تهیه شد. در دمای -20 درجه ذخیره شد. نمونه های 2 میکرو لیتری DNA برای PCR استفاده شد.

2-6 تشخیص ژن PVL: حضور ژن های *lukS-PV* و *lukF-PV* کد کننده اجزای PVL با یک روش مبتنی بر واکنش زنجیره پلیمراز با جفت پرایمر توصیف شده توسط لینا و همکاران تعیین شد. 2 پرایمر، در این مطالعه به صورت زیر بودند: 5′ATCATTAGGTAAAATGTC- TGGACATGATCCA 3′ به صورت پیشرو و 5′GCATCAAST- GTATTGGATAGCAAAAGC 3′ به صورت معکوس در نظر گرفته شد(16). در این مطالعه سویه استافیلو کوگوس ATCC 49775, به عنوان شاهد مثبت استفاده شد و اب مقطر به صورت شاهد منفی استفاده شد. تکثیر دی ان ای بر روی سایکلر اپندورف در حجم نهایی 20 میکرو لیتر حاوی 1.5 mM of MgCl2، 250 پلیمراز، 1 U of TaqDNA 10 mM Tris-HCL (PH 9.0), 30 mM KCL و 4 میکرو لیتر

sina-pub.ir

دی ان ای انجام شد. دناتوراسیون در 94 درجه به مدت 45ثانیه و با حرارت 61.3 درجه به مدت 45 دقیقه و اکستنشن در 72 درجه به مدت 45 درجه و اکستنشن نهایی در 72 درجه به مدت 45 ثانیه انجام شد.محصولات PCR با الکتروفورز از طریق ژل اگاروز1.5 درصد جاوی اتیدیدوم بروماید حل شدند. کیت تخلیص PCR برای تخلیص محصولات PCR استفاده شده و توالی یابی رشته توسط شرکت بیونر انجام شد. نوکلوتید و توالی ها با نرم افزار کروماس 1.45 و نرم افزار MEGA-4 و BLAST در NCBI تحلیل شد.

2-7 تحلیل آماری: تحلیل آماری با SPSS انجام شد. ازمون کای اسکوئر و تست دقیق فیشر برای مقایسه نسبت ها انجام شد. مقدار P کم تر از 0.05 به صورت معنی دار در نظر گرفته شد.

3- نتایج

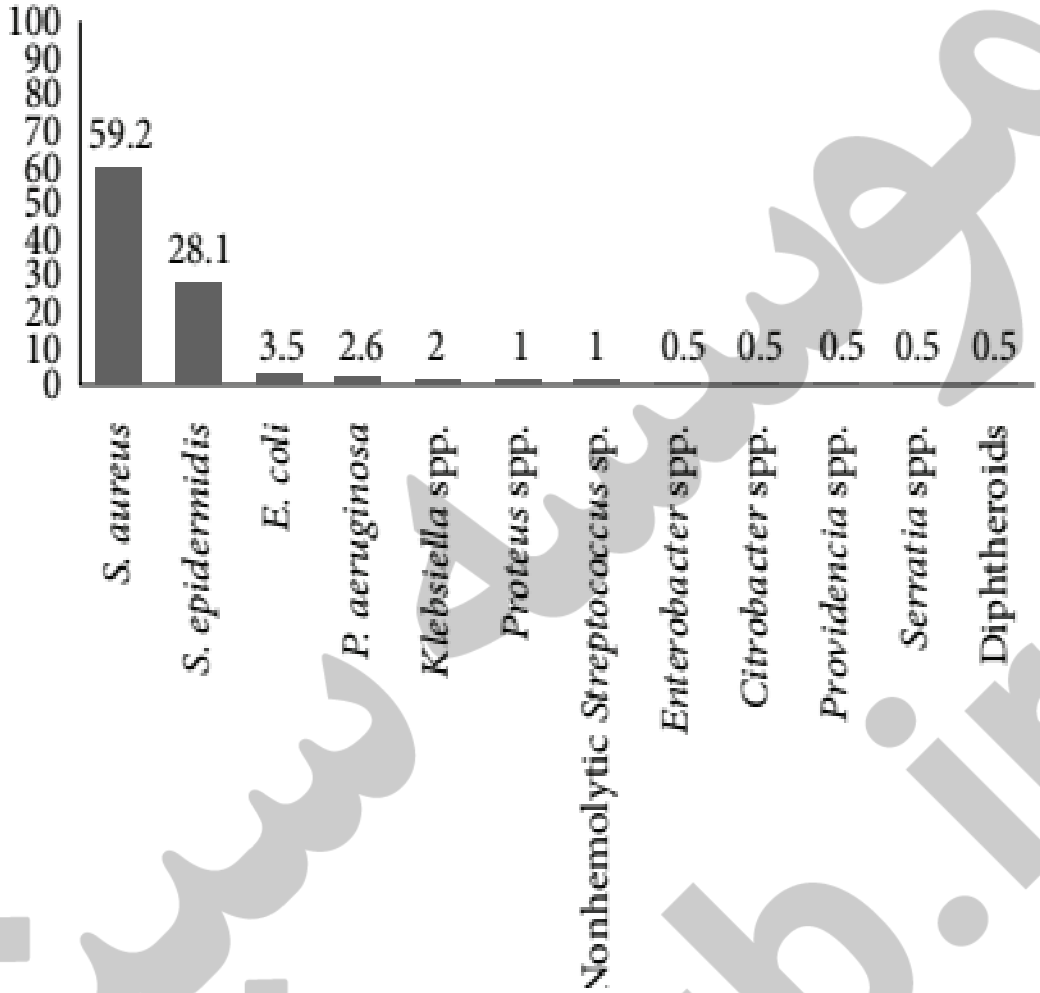
57.9 درصد(338/196) شامل بیماران پمفیگوس و 42.1 درصد (338/142) سایر عفونت های پوستی بودند. 52.9٪ (338/179) شامل استافیلوکوکوس اورئوس ایزوله شده بودند. 116 از 196 (59.1٪) بیماران پمفیگوس استافیلوکوکوس اورئوس و عفونت بافت SOF را نشان دادند ، . ، 2.5٪ سودوموناس آئروژینوزا، 2٪ کلبسیلا را داشتند. ،. 1٪ پروتئوس ، 1٪ غیر همولیتیک، استرپتوکوک 0.5٪ دیفتروئید ، 0.5٪ سیتروباکتر ،. 0.5٪ انتروباکت . و 0.5٪ مارسسنس بود. (شکل 1) بود.

سن متوسط116 بیمار برابر با 42.5 سال بود به طوری که 54.4 درصد مرد و 45.6 درصد زن بودند. 87 نفر از 116 نفر از بیماران دارای عفونت های پوستی بودند. 22 نفر از 116 (18.9 درصد) دارای عفونت بیمارستانی بودند. روز های متوسط بستری 3.9±4.5 روز بود.

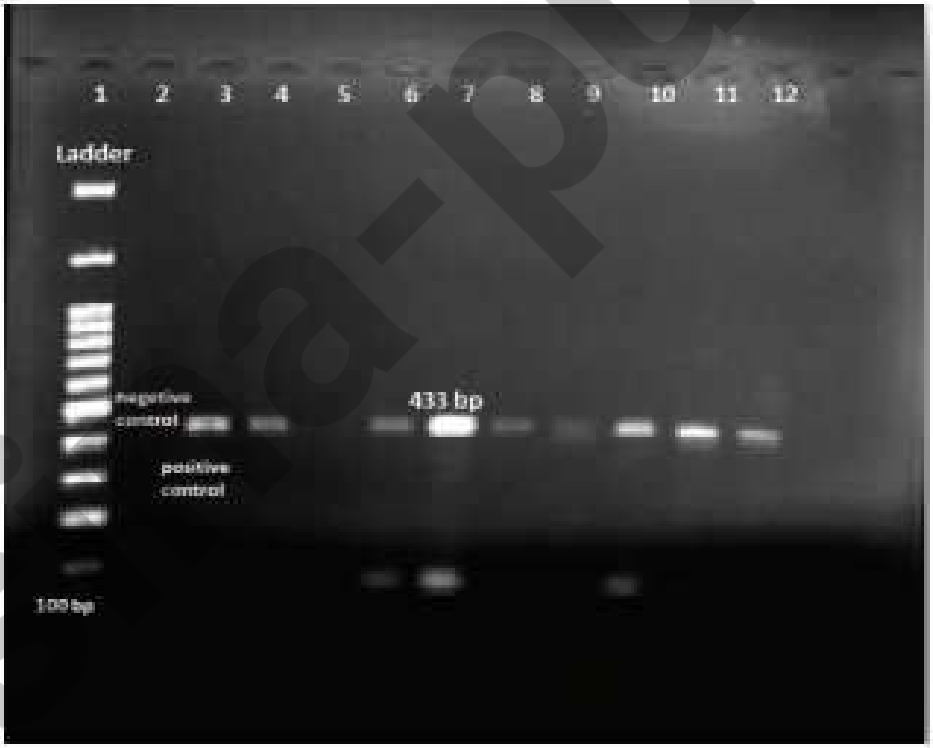
از 116 ایزوله استافیلو کوگوس از عفونت پوستی بیماران در این مطالعه، 48 (41.3٪) MRSA (OR = 2.3، 0.006 =) MSSA 57.7٪ (116/67)، و 52.5٪ MDR (OR = 1.8، 0.036 =). بودند. میزان شروع عفونت استافیلوکوگوس تولید PVL در بیماران پمفگسوس برابر با (25/116) 21.5% بود(شکل 2). از ایزوله های مثبت، 14(56 درصد)، MRSA و 11(44 درصد) شامل MSSA بودند.

93.9 درصد ایزوله ها مقاوم به پنی سیلین بودند. همه سویه ها به لینزولید حساس بودند و 99.1 درصد ایزوله ها حساس به داپتومایسین بودند. همه ایزوله ها حساس به وانکومایسین می باشند.

sina-pub.ir

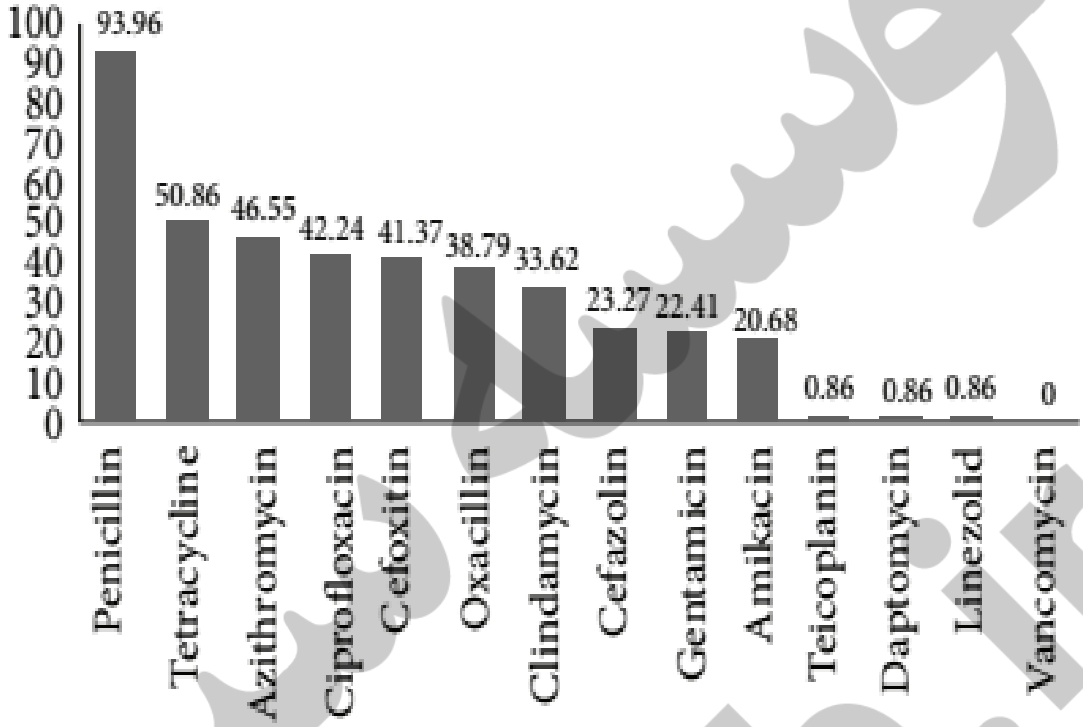


شکل 1: عوامل اتیولوژیکی عفونت بافت نرم و پوست بیماران پمفیگوس



sina-pub.ir

شکل 2: محصول PCR ژنPVL. نشانگر اندازه مولکولی. خط سوم: شاهد مثبت برای ژن PVL. خط دوم: شاهد منفی. خطوط 4 و 6-12: ایزوله مثبت از بیمار برای ژن PVL



شکل 3: درصد فرا.وانی مقاومت انتی بیوتیک استافیلوکوگس از بیماران پمفیگوس

جدول 1: اطلاعات جمعیت شناختی عفونت استافیلووکوکوس از بیماران پمفیگوس در این مطالعه

ویژگی ها	عدد

sina-pub.ir

دامنه سنی	6–88
میانگین سنی	42.5 ± 17.53
طول بستری	0–15
متوسط زمان بستری	8.3 ± 5.3
طول بستری	
کم تر از یک هفته	67 (57.7)
بیش از یک هفته	21 (18.1)
جنسیت	
مرد	63 (54.4)
زن	53 (45.6)
بستری	
بله	87 (75)
خیر	29 (25)
عفونت بیمارستانی	
بله	22 (18.9)
خیر	94 (81.1)
MRSA	49 (42.2)
MSSA	67 (57.7)
ژن مثبت MRSA	25 (18.3)
ژنPVL	14 (28.5)
MSSA حاوی ژن PVL	11 (16.4)

4- بحث

پمفیگوس، یک بیماری خود ایمنی شناخته شده است(17). امروزه، روابط بین خود ایمنی، نقص ایمنی و عفونت مشخص شده است. خود ایمنی و نقص ایمنی جدا از هم نیستند بلکه بین آن ها ارتباط وجود دارد. از سوی دیگر بستری شدن علاوه بر درمان خود ایمنی موجب می شود تا بیمار PV به عفونت حساس شود. در برخی مطالعات، عفونت های باکتریایی گزارش شده است(20-21). بیشتر عفونت های پوستی باکتریایی در بیماران ناشی از *Staphylococcus aureus* بوده است. در مطالعات دیکر، در بیماران PV، عفونت های پوستی ناشی از استافیلوکوگوس گزارش شده است. کانور و دهار، عفونت را عامل اصلی مرگ و میر در بیماران در نظر گرفته است. در این مطالعه، 53.7 درصد بیماران دارای عفونت های بافت نرم و پوستی و 53.6 درصد دارای MRSA بودند. تا

sina-pub.ir

کنون هیچ مطالعه ای به بررسی طیف بالینی و شیوع عفونت های مثبت در جمعیت پمفیگوس ایران نپرداخته است. این مطالعه رابطه ای بین MRSA و *S. aureus* SSTIs در بیماران یافت. این مطالعه نشان داد که 21.5 درصد ایزوله ها از عفونت های بافت نرم و پوست بیماران دارای استافیلککوس بودند. داده های مطالعه ای در انگلیس در 2010 نشان داد که 20 درصد ایزوله ها از عفونت های پوستی جاوی سویه های مثبت PVL بودند. نتایج مطلعه فاگو وهمکاران در زمینه عفونت های پوستی مثبت استافیو کوگوس نوصیف کرده اند که شیوع PVL بالاتر از 2درصد است. مطالعه عهاوی و همکاران بر روی شیوع ژن های کد کننده لکوسینین ها میان ایزوله های بالینی استافیلوکوکوس متی سیلین در ایران نشان داد که 24.2 درصد ایزوله ها PVL مثبت بودند. در واقع بیش از 94 درصد بیماران، ایزوله های مثبت PVL مربتط با نمونه ها بودند. ژن PVL توسط 19.2 درصد ایزوله های استافیلو کوگوس مقاوم به متی سیلین حمل می شود. مطالعه هولمز بر روی ایزوله های کوگوس حامل ژن های والنتین لوسیدین در انگلیس و ولز نشان داد که ژن PVL توسط کم تر از 2درصد ایزوله ها منتقل می شود. به طور خلاصه، بیشاز 50 درصد بیماران در این مطالعه توسطMRSA.3 از 32 مورد MRSA بیمارستانی کلونیزه شده بودند.پمفیگوس ارتباط معنی داری با کلونیزاسیوتن MRDA داشت. تفاوت معنی داری بین SSTI در بیماران پمفیگوس با مردان MDR، مصرف قبلی انتی بیوتیک، واکومایسین و امینو کلیکوزید ها، مصرف کورتیکوستروید ها و عفونت بیمارستانی مشاهده شد.

5- نتیجه گیری

این اولین گزارش از عفونت استافیلوکوکوس در بیماران پمفیکوس در ایران است. فرایند ضد خود ایمنی و سرکوب ایمنی موجب حساسیت بیماران می شود. عفونت استافیلوکووس در بیماران با پمفیگوس در مقایسه با باکتری های دیگر بالا بود. ژن PVL حمل شده توسط استافیلوکوگوس مقاوم به متی سیلین در این مطالعه بالا بود.