گزارش کوتاه
مجله دانشگاه علوم پزشکي رفسنجان
دوره یازدهم، بهمن و اسفند ۱۳۹۱، ۶۱۰-۶۰۵

شناسایی نایسریا مننژیتیدیس در کودکان مشکوک به مننژیت توسط PCR و مقایسه آن با روش‌های کشت و آگلوتیناسیون (گزارش کوتاه)

رضا قوطاسلو[1]، صفر فرج‌نیا[2]

دریافت مقاله: ۹۰/۹/۲۷ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۱/۱/۲۸ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۱/۲/۹ پذیرش مقاله: ۹۱/۲/۱۹؟

چکیده

زمینه و هدف: مننژیت باکتریایی خصوصاً مننگوکوک یکی از خطرناک‌ترین بیماری‌های عفونی است. هدف از این مطالعه، بررسی شیوع مننژیت کودکان ناشی از مننگوکوک، در کودکان، به روش‌های مولکولی و مقایسه آن با روش‌های مرسوم بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی، ۲۷۵ کودک مشکوک به بیماری مننژیت در مرکز پزشکی کودکان تبریز به روش نمونه‌گیری آسان و در دسترس مورد مطالعه قرار گرفتند. نمونه‌ها از طریق انجام پونکسیون نخاعی تحت مطالعه باکتریولوژی و آگلوتینایسیون قرار گرفت. DNA به روش فنل- کلروفرم استخراج و PCR انجام شد.

یافته‌ها: میانگین سنی بیماران ۲/۰۴ ± ۴۲/۲۰ ماه و کمترین ۱۱ روز و بیشترین ۱۱ سال بود. مننژیت مننگوکوکی در جنس مذکر بیشتر از دختران بود (به‌ترتیب ۶۰٪ و ۴۰٪) . تعداد ۵ مورد در تست آگلوتیناسیون (۱/۸٪) و ۳ مورد (۱/۱٪) در کشت و ۱۰ مورد (۳/۶٪) PCR مثبت بودند.

نتیجه‌گیری: مننگوکوک یکی از عوامل اصلی ایجاد کننده مننژیت باکتریایی کودکان در منطقه آذربایجان به شمار می‌آید. روش PCR برای شناسایی مننژیت مننگوکوکی ارزش بالایی دارد.

واژه‌های کلیدی: نایسریا مننژیتدیس، مننژیت، PCR

مقدمه

شایع‌ترین عوامل باکتریایی مننژیت در کودکان نایسریا مننژیتیدیس، هموفیلوس آنفلوانزا، استرپتوکوک گروه ب و پنوموکوک می‌باشد [۱]. هر ساله این بیماری در آمریکا سبب مرگ بیش از ۲۰۰۰ نفر می‌گردد [۲]. طبیعی است که میزان مرگ و میر در کشورهای توسعه نیافته بیش از

۱- (نویسنده مسئول) دانشیار، مرکز تحقیقات عفونی و گرمسیری، گروه آموزشی میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ایران
تلفن: ۰۴۱۱-۳۳۶۴۶۶۱، دورنگار: ۰۴۱۱-۳۳۶۴۶۶۱، پست الکترونیک: rzgottaslo@yahoo.com
۲- دانشیار، مرکز تحقیقات عفونی و گرمسیری، گروه آموزشی میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ایران

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-02-19]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.6.6.3]

این آمار و ارقام خواهد بود [۳]. تشخیص سریع و درمان این بیماری حیاتی است زیرا عوارض جبران‌ناپذیری مانند کاهش شنوایی، عقب ماندگی ذهنی، تشنج و تغییرات رفتاری در بر دارد [۴]. درمان قطعی و ادامه و یا قطع درمان بر اساس نتیجه آزمایش‌های کشت و آنتی بیوگرام، بیوشیمیایی (قند و پروتئین)، سیتولوژی استوار است که در عرض ۷۲-۴۸ ساعت قابل دستیابی است.

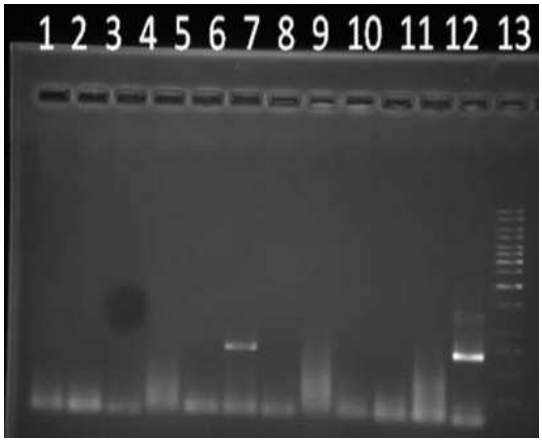
این مطالب نشانگر نیاز مبرم و اساسی به یک روش دقیق و سریع برای تشخیص مننژیت باکتریایی است [۵]. ویژگی و حساسیت آزمون‌های فوق مختلف گزارش شده است [۶] و با مصرف آنتی‌بیوتیک قبل از بستری شدن، احتمال مثبت شدن کشت به شدت کاهش می‌یابد [۷]. با توجه به مشکلات عدیده در روش‌های تشخیصی مننژیت، در سال‌های اخیر روش Polymerase Chain Reactions به عنوان روش سریع شناسایی مننژیت معرفی و مشخص شده که می‌توان با کمک آن عوامل مختلف عفونی را تشخیص داد [۸-۷ و ۲]. هدف از این مطالعه تشخیص و شناسایی مننژیت‌های مننگوکوکی به روش مولکولی و مقایسه نتایج آن با روش‌های کشت و آگلوتیناسیون بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی، ۲۷۵ کودک که با احتمال مننژیت در مرکز پزشکی کودکان تبریز بستری می‌شدند، مورد بررسی قرار گرفتند. روش نمونه‌گیری به‌صورت آسان ودر دسترس بود. قبل از شروع آنتی‌بیوتیک مایع مغزی-نخاعی گرفته می‌شد. نمونه مایع نخاعی به دست آمده از طریق پونکسیون نخاعی، تحت مطالعه باکتریولوژی (کشت و رنگ آمیزی)، بیوشیمیایی، سیتولوژی و سرولوژی قرار گرفتند. مایع نخاعی تا زمان انجام آزمایشات مولکولی در دمای منهای ۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. PCR با کمک پرایمرهای اختصاصی نایسریا مننژیتیدیس طبق مطالعات گذشته انجام شد [۲،۹]. پس از جمع‌آوری داده‌ها، درصد فراوانی مننژیت‌های باکتریایی طبق آمار توصیفی در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ آنالیز گردید.

نتایج

میانگین سنی بیماران مورد مطالعه ۲/۰۴±۴۲/۲۰ ماه و کمترین ۱۱ روز و بیشترین ۱۱ سال بود. مننژیت مننگوکوکی در پسران بیشتر از دختران بود (به‌ترتیب ۶۰٪ و ۴۰٪). اختلال در مایع نخاعی از نظر پروتئین و قند در ۱۰٪ از بیماران وجود داشت. قبل از بستری شدن ۷۵ نفر (۲۷/۳٪) آنتی‌بیوتیک دریافت نموده بودند. به طور کلی تعداد ۵ مورد در تست آگلوتیناسیون (۱/۸٪) و ۳ مورد (۱/۱٪) در کشت و ۱۰ مورد (۳/۶٪) در PCR مثبت بودند (عکس ۱).



عکس ۱- ژل الکتروفورزیس تعدادی از محصولات PCR، خط ۱ کنترل منفی، خط ۱۳ سایز مارکر، خط‌های ۵-۲ و ۱۱- ۷ منفی، خط‌های ۶ و ۱۲ مثبت

بحث

تشخیص به موقع مننژیت به عنوان یک فوریت پزشکی اهمیت زیادی در درمان مؤثر بیماران دارد. بیمارستان کودکان تبریز در واقع محل ارجاع نهایی

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-02-19]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.6.6.3]

بیماران بدحال دارای مننژیت از استان آذربایجان شرقی و استان‌های مجاور به شمار می‌رود، بنابراین، آمار این تحقیق می‌تواند قابل استناد در منطقه شمالغرب کشور باشد.

تشخیص مننژیت با آزمایش‌های مختلفی قابل انجام است. روش رنگ‌آمیزی، علیرغم ساده و ارزان بودن؛ روشی مفید برای تشخیص زودهنگام مننژیت است [۱]. در این مطالعه ارزش تشخیصی تهیه اسمیر برابر روش گران قیمت آگلوتیتاسیون بود. از طرفی، ۲ مورد مننگوکوک در آگلوتیناسیون مثبت اما کشت منفی بودند.

روش PCR برای تشخیص مننژیت در چندین مطالعه به کار رفته است. محققان معتقدند که می‌توان از آن به عنوان روش غربالگری در عرض ۲ ساعت و برای تصمیم به شروع آنتی‌بیوتیک استفاده نمود [۱۰، ۸، ۲].

Newcom و Tosila در طی سال‌های ۲۰۰۱-۱۹۹۹ در شهر آتن و Pollard در کانادا در کودکان زیر ۱۳ سال هر یک به طور مستقل روش PCR را برای بررسی نمونه‌های خون یا مایع مغزی- نخاعی مورد آزمایش قرار دادند. PCR در ۴۵٪ موارد تنها روش مثبت بود و نشانگر این است که روش‌های مرسوم در تشخیص مننژیت‌های مننگوکوکی از حساسیت پایینی برخوردار است. روش PCR سریع و برای قطعی نمودن تشخیص حتی در خون نیز امکان‌پذیر است. [۱۱، ۹، ۷]. در انگلستان تعداد ۱۲۱۶ مورد مننژیت کودکان در سال ۲۰۰۱ ثبت شده که مننگوکوک شایع‌ترین (۴۸٪) عامل بود. Davidson معتقد است که آمار مننگوکوک به دلیل واکسیناسیون علیه هموفیلوس آنفلوانزه زیاد می‌باشد [۱۲].

در این مطالعه ۴۴٪ نمونه‌های بالینی مشکوک به مننژیت مننگوکوکی در مقایسه با روش مولکولی کشت منفی شدند و اغلب به دلیل مصرف آنتی‌بیوتیک خصوصاً پنی سیلین قبل از بستری شدن بودند. اغلب محققین به دلیل منفی کاذب شدن کشت با مصرف آنتی‌بیوتیک، روش PCR را برای تشخیص مننژیت خصوصاً مننگوکوکی توصیه می‌کنند [۱۲-۱۰، ۸].

در این مطالعه حساسیت روش PCR نسبت به روش کشت بیش از ۳ برابر بود. عامل مهم دیگر که استفاده از روش‌های PCR را برای شناسایی مننژیت تأکید می‌نماید، جنبه آماری مننژیت است و طی چندین مطالعه نشان داده شده که آمار واقعی مننژیت که توسط آزمایشگاه گزارش می‌شود کمتر از آمار واقعی است [۱۰-۹، ۳] و اگر این روش استفاده شود ممکن است آمار مننژیت مننگوکوکی تا ۶۰٪ بالاتر رود [۸].

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه، مننگوکوک یکی از عوامل اصلی ایجادکننده مننژیت باکتریایی کودکان استان آذربایجان است. PCR برای شناسایی مننژیت مننگوکوکی ارزش بالایی داشته و حساسیت و ویژگی آن بیشتر از کشت و آگلوتیناسیون می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه توسط حمایت مالی مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی تبریز به شماره ۱۰/۸۶ انجام شد. بدینوسیله از مسئولین مرکز فوق، تشکر می‌شود.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-02-19]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.6.6.3]

References

[1] Sinclair D, Preziosi MP, Jacob JT, Greenwood B. The epidemiology of meningococcal disease in India. *Trop Med Int Health* 2010; 15(12): 1421-35.

[2] Saravolatz LD, Manzor O, Vander-Velde N, Pawlak J, Berlin B. Broad- range bacterial Polymeras chain reaction for early detection of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis* 2003; 36(1): 40-5.

[3] Alborzi A, Vahedi F, Karimi A, Azemodeh M, Labaf-Qasemi R, Kadivar MR, et al. Etiological agents, prevalence and complications of children meningitis in 24 month in Shiraz and Tehran. *Trop and Infect Dis J* 2002; 7(18): 26-31. [Farsi]

[4] Edmond K, Clark A, Korczak VS, Sanderson C, Griffiths UK, Rudan I. Global and regional risk of disabling squeal from bacterial meningitis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2010; 10(5): 317-28.

[5] Brigham KS, Sandora TJ. Neisseria meningitidis: epidemiology, treatment and prevention in adolescents. *Curr Opin Pediatr* 2009; 21(4): 437-43.

[6] Kanegaye JT, Solimanzadeh P, Bradley JS. Lumbar puncture in pediatric bacterial meningitis: defining the time interval for recovery of cerbro spinal fluid pathogens after parenteral antibiotic pretreatment. *Pediatrics* 2001; 108 (5): 1169-74.

[7] Newcomb J, Cartwright K , Palmer WH , McFadden J. PCR of peripheral blood for diagnosis of meningococcal disease. *J Clin Microbiol* 1996; 34 (7): 1637-40.

[8] Radstorm P, Backman A, Qian N, Kragsjerg P, Pahlson C, Olcen P. Detection of bacterial DNA in cerebrospinal fluid by an assay for simultaneous detection of Neisseria meningitidis, Haemophilus influenzae and streptococci using a semi nested PCR strategy. *JCM* 1994; 32(11): 2738-44.

[9] Pollard AJ, Probe G, Trombley C, Castell A, Whitehead S. Evaluation of a diagnostic PCR assay for *Neisseria meningitidis* in North America and field experience during an outbreak. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126: 1209-15.

[10] Ataei R, Hajia A, Godarzi M, Mehrabi Z, Tavana A,Nakhjovani F. Rapid detection of meningococcal meningitis by PCR. *Yafteh* 2006; 8(30): 92-7. [Farsi]

[11] Tosila MN, Theodoidou M, Tzanakaki G Kalabalikis P, Urani E, Glykeri M. The evolving epidemiology of invasive meningococcal disease: a two year perspective, population based study in

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-02-19]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.6.6.3]

[12] Davidson KL, Ramsay ME. The epidemiology of acute meningitis in children in England and Wales. *Arch Dis Child* 2003; 88: 662-4.

children in the area of Athens. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003; 36: 87-94.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-02-19]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.6.6.3]

Detection of *Neisseria meningitidis* in Pediatrics Meningitis by PCR, in Comparison to Culture and Agglutination Tests (Short Report)

R. Ghotaslou[1], S. Farajnia[2]

Received: 18/12/2011 Sent for Revision: 16/04/2012 Received Revised Manuscript: 28/04/2012 Accepted: 08/05/2012

Background and Objectives: Bacterial meningitis especially meningococcal meningitis is a serious and sometimes fatal infection. The aim of this study was the determination of meningitis disease by routine and molecular assays.

Materials and Methods: CSF samples were collected from 275 children and agglutination, bacteriological tests were achieved. DNA extraction was done according to phenol-chlorophorm method and PCR was carried out by the specific primers.

Results: The mean age of the patients was 42±2 month. Younges was 11 days and the oldest child was 11 years old. Meningococcal meningitis was more common in the male gender. Totally, *Neisseria meningitidis* was found in 3 (1.1%), 5(1.8%) and 10(3.6%) by culture, agglutination and PCR assays, respectively.

Conclusion: One of the most common etiological agents of meningitis is *Neisseria meningitidis* in the Azerbaijan state. Molecular diagnosis has higher sensitivity and specifity in comparison to culture and agglutination tests.

Key words: Meningitis, *Neisseria meningitidis* , PCR

Funding: This research was funded by Tropical and Infectious Diseases Research Center of Tabriz University of Medical Sciences.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The committee of the Research Council and ethical committee of Tabriz University of Medical Sciences was approved the study.

How to cite this article: Ghotaslou R, Farajnia S. Detection of *Neisseria meningitidis* in Pediatrics Meningitis by PCR, in Comparison to Culture and Agglutination Tests (Short Report). *J Rafsanjan Univ Med Scie* 2012; 11(6): 605-610. [Farsi]

1- Tropical and Infectious Diseases Research Center of Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
(Corresponding Author) Tel: (0411) 3364661, Fax: (0411) 3364661, E-mail: rzgottaslo@yahoo.com
2- Tropical and Infectious Diseases Research Center of Tabriz University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-02-19]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1391.11.6.6.3]