Archive of SID

طب نظامی
بهار ۱۳۸٤، شماره ۷ (۱)
صفحات: ۵۶-۴۹

تعیین اتیولوژی باکتریایی بیماران مبتلا به مننژیت ارجاع شده به چهار بیمارستان نظامی در تهران طی سال‌های ۱۳۸۳ - ۱۳۸۲

رمضانعلی عطایی[۱*].Ph.D، علی مهرابی‌توانا[۲*].Ph.D، غلامعلی قربانی[۳*].M.D، علی‌اکبر کریمی‌زارچی[۴*].Ph.D، مسعود حاجیا[۵***].Ph.D، سید محمدجواد حسینی[۶***].M.D، سید احمد موسوی[۷**].M.D، محمدجواد سلطان‌پور[۸*].M.L.D، زهرا سفیری[۹***].M.Sc و علی‌اکبر اصفهانی[۱۰*].M.Sc

*آدرس مکاتبه: * دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...«عج» - پژوهشکده طب رزمی - مرکز تحقیقات بهداشت نظامی و دانشکده پزشکی - گروه میکروب‌شناسی - تهران - ایران*

*** دانشگاه علوم پزشکی ارتش - دانشکده پزشکی - گروه عفونی - تهران - ایران*

**** دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...«عج» - پژوهشکده طب رزمی - مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی - تهران - ایران*

تاریخ اعلام وصول: ۱۳۸۳/۱۰/۲۵ تاریخ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸٤/۲/۲۸ تاریخ اعلام قبولی مقاله: ۱۳۸٤/۳/۵

خلاصه

مقدمه: مننژیت‌های باکتریایی از عفونت‌های شدید با مرگ و میر بالا هستند. از آنجا که این بیماری در سنین مختلف به‌صورت اسپورادیک گزارش می‌گردد. لذا هدف این تحقیق، بررسی اتیولوژی مننژیت‌های باکتریایی بیماران مبتلا به مننژیت مراجعه کننده به ۴ بیمارستان نظامی بوده است.

مواد و روش‌کار: این مطالعه به‌منظور تعیین اتیولوژی مننژیت‌های باکتریایی در بیماران مراجعه کننده به ۴ بیمارستان وابسته به نیروهای نظامی طراحی و انجام گردید. در این تحقیق از محیط کشت مولر هینتون آگار، تریپتیکیز سوی‌آگار و تایرمارتین تقویت شده و نیز روش‌های استاندارد باکتریولوژیک استفاده گردید. در صورتی که در لام مستقیم (لام مرطوب) سلول پلی‌مورف یا باکتری مشاهده نمی‌شد. نمونه به مدت ۵ دقیقه با دور g × ۱۰۰۰۰ و دمای آزمایشگاه سانتریفیوژ گردید و از رسوب آن به‌طریق فوق اسمیر تهیه و بررسی شد. همچنین، از نمونه CSF به هر یک از محیط‌های کشت مولر هینتون آگار، تریپتیکیز سوی‌آگار و نیز تایر مارتین آگار تقویت شده تلقیح و در شرایط ۳ درصد CO_2 در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. شناسایی باکتری جدا

۱- استادیار - دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...«عج» - نویسنده مسئول
۲- دانشیار - دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...«عج»
۳- استادیار - دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...«عج»
۴- استادیار - دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...«عج»
۵- دانشیار - دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...«عج»
۶- استادیار - دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...«عج»
۷- استادیار - دانشگاه علوم پزشکی ارتش
۸- دکترای علوم آزمایشگاهی - دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...«عج»
۹- کارشناسی ارشد - دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...«عج»
۱۰- کارشناسی ارشد - دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...«عج»

www.SID.ir

Archive of SID

شده با کمک آزمایشات بیوشیمیایی و نیز آنتی‌سرم اختصاصی انجام شد.

نـتایج: در ایـن تحقـیق، ۱۰۰ نمونه از مایع نخاع بیماران مبتلا به مننژیت توسط پزشک متخصص با رعایت شرایط آسـپتیک جمـع‌آوری و بررسـی شـد. یافـته‌های این تحقیق نشان داد، ۶۳ درصد بیماران مذکر و ۳۷ درصد آنها مؤنث بودنـد. ۵۰ درصـد بیماران افراد تحت تکفل و پس از آنها افراد بازنشسته و شاغلین قرار داشتند. سربازان وظیفه تنها ۸ درصـد را تشـکیل دادنـد. از نظر کشت باکتریولوژیک، ۲۸ درصد نمونه‌های مایع نخاع مثبت و ۷۲ درصد منفی بودند. نـتایج بررسـی‌هـای باکتریولوژیک نشان داد، از ۸ سرباز مبتلاء به بیماری، تنها از مایع نخاع ۵ نفر نیسریا مننژیتیدیس جـدا گـردید. یک نفر مبتلا به مننژیت ناشی از نیسریا سیکا و از دو نفر دیگر هیچ شواهد باکتریولوژیک به‌دست نیامد. در یکـی از بـیماران مبتلا به مننژیت منگوکوکوسی عود بیماری وجود داشت. همچنین، از ۱۰ بیمار با سن بالای ۵۵ سـال اسـترپتوکوکوس پنمونـیه جـدا گـردید. از ۴ نفر بیمار که بعد از آسیب ناحیه کمری مبتلا به مننژیت شده بودند؛ استافیلوکوکوس کواگولاز منفی، پسودوموناس آئروجینوزا و اشریشیا کولی جدا گردید

بحـث: بر اساس یافته‌های این تحقیق، ۲۸ درصد موارد مشکوک به مننژیت از نظر کشت باکتریولوژیک مثبت شدند کـه تـنها ۵ مـورد (۱۷/۸ درصد) نیسریا مننژیتیدیس از بیماران مشکوک به مننژیت جدا شد که همگی سرباز بودند. با وجـود اجرای برنامه واکسیناسیون سربازان برعلیه منگوکک نیازمند علل‌یابی است. بررسی‌های بیشتر نشان داد، ۴ نفر از این افراد دچار نقص سیستم کمپلمان هستند که بررسی علل آن نیازمند انجام تحقیقات بیشتر است. به‌علاوه نظر به ایـن کـه فـراوان‌تریـن باکتری جدا شده در این تحقیق استرپتوکوکوس پنومونیه (۳۵/۷ درصد)، آن هم در افراد تحت تکفـل بـود، بـا توجـه بـه صـرف هزیـنه‌هـای سـنگین بـه‌نظـر مـی‌رسد، اجرای برنامه واکسیناسیون برای این افراد ضرروی باشد.

واژه‌های کلیدی: مننژیت باکتریایی، مایع نخاع، بیمارستان نظامی و تشخیص باکتریولوژیک.

مقدمه

پـایش بـیماری‌هـای عفونـی، بـه‌ویـژه عفونت‌های دستگاه عصبی مرکـزی به‌صورت یکی از اولویت‌های مهم بهداشتی درمانی درآمده است [۱]. مننژیت باکتریایی یکی از عفونت‌های شدید، با مرگ‌ومیر بالا است که اگر به سرعت تشخیص داده نشود و درمان مناسب نیز صورت نگیرد حیات انسان را به خطر می‌اندازد [۲]. اگر چه نیروهای نظامی افراد جوان، میانسال و سالم هستند اما به دلیل زندگی جمعی مـتراکم، کاهش شرایط بهداشتی در اماکن شلوغ و نیز نقل و انتقال بـه مناطق آب و هوایی جدید، بیشتر از سایر اقشار جامعه در معرض ابتلاء به بیماری خطرناک مننژیت هستند. لذا، این بیماری از سال‌ها قـبل مـورد توجه ارتش‌های مختلف جهان قرار گرفته است [۳، ۴]. چـنانچه برخـی از کشـورهـا بـا مطالعـات مخـتلف اپیدمـیولوژی، سـرولوژی، باکـتریولوژی و تعییـن نحـوه انـتقال عامل بیماری [۵]، موفـق بـه کشـت، جداسـازی و تعییـن سروتیپ‌های باکتری عامل بـیماری شـده و در نتـیجه اقـدام بـه سـاخت واکسـن مـربوطه و مصون‌سازی جمعی نیروهای نظامی خود نموده‌اند [۶، ۷]. همچنین، ایـن کشورها اقدام به بررسی میزان اثر بخشی واکسن‌های مصرفی در نـیروهـای نظامـی نمـوده [۸، ۹] و نشـان داده‌انـد کـه بـرنامه واکسیناسیون به‌ویژه علیه مننژیت منگوککی با موفقیت همراه بوده و توانسـته است از بروز بیماری جلوگیری نماید [۱۰]. با آن‌که بیش از ۸۰ درصـد مننژیـت‌هـای باکـتریال در اثـر ۵ ارگانیسـم از جمله: اسـترپتوکوکوس پنومونیه، نیسریا مننژیتیدیس، هموفیلوس آنفلوانزا، اسـترپتوکوکوس گـروه B و لیستریا منوسیتوژنز ایجاد می‌شود اما به علت آن که مننژیت‌های ناشی از استرپتوکوکوس پنومونیه و نیسریا مننژیـتـیدیس از قـدرت سـرایت بیشـتری بـرخوردار هسـتند [۱۱]، نیروهای نظامی را علیه این دو باکتری واکسینه می‌نمایند. در کشور مـا، از ابـتدای جـنگ تحمیلـی رژیـم معـدوم بعثـی علیه جمهوری

www.SID.ir

Archive of SID

اسلامی ایران، واکسن منگوکک (مشتمل بر پلی‌ساکارید گروه‌های A و C) در برنامه واکسیناسیون نیروهای نظامی وارد و مقرر شد که سربازان وظیفه و نیروهای آموزشی پادگان‌ها واکسینه شوند. در سال ۱۳۸۰ برنامه واکسیناسیون مننژیت تغییر یافت و نیروهای وظیفه قبل از ورود به خدمت نظام واکسینه شدند. با این حال، گزارشات پراکنده در سطح کشور حکایت از موارد تک گیر مننژیت در برخی از نیروهای نظامی داشت. لذا، این تحقیق به‌منظور بررسی باکتریولوژیک بیماران مبتلا به مننژیت ارجاع شده به ۴ بیمارستان نیروهای نظامی طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

مواد:

در این تحقیق محیط کشت مولر هینتون آگار (Muler Hintone Agar)، تریپتیکیز سوی‌آگار (Trypticase Soy Agar)، تایر مارتین آگار (Thayer – Martin Agar) از شرکت هندی Himedia، تیوگلی‌کولات، شیر بدون چربی (Skim Milk)، مانیتول سالت‌آگار، SIM، TSI، سیستئین هیدروکلراید، گلوکز منوهیدرات، مالتوز منوهیدرات، پراکسید هیدروژن، دیسک اکسیداز و عصاره مخمر (yeast extract)، از شرکت Merk آلمان، خون دفیبریه گوسفند و سرم گوساله از مؤسسه رازی، ویتامین K، ویتامین B12 از دارو پخش و فیلتر میلی پور ۰/۴۵ میکرومتری از سارتوریوس تهیه گردید.

تهیه محیط کشت

محیط کشت پایه مولر هینتون آگار، تریپتیکیز سوی‌آگار و نیز تایر مارتین آگار بر اساس دستورالعمل کارخانه سازنده تهیه و با سرم گوساله (۵ درصد)، سیستئین هیدروکلراید (۰/۰۵ درصد)، عصاره مخمر (۵ درصد) و نیز ویتامین K به نسبت ۰/۵ میلی‌لیتر در هر لیتر تقویت گردید. هر یک از محیط‌ها در ویال‌های ۵۰ میلی‌لیتری توزیع و پس از قرار دادن درب پلاستیکی آنها با اتوکلاو ۱۱۵ درجه سانتی‌گراد به تناوب ۵ دقیقه استریل گردید. پس از استریل شدن و کنترل عدم آلودگی، محیط‌ها در دمای ۵ تا ۱۰ درجه سانتی‌گراد یخچال قرار داده و در موقع لزوم استفاده شدند.

جمع‌آوری نمونه CSF و بررسی باکتریولوژیک آنها

با هماهنگی متخصص عفونی و رزیدنت‌های کشیک بیمارستان از وجود بیمار مبتلا به مننژیت باخبر شده و پس از این‌که مایع نخاع با رعایت شرایط آسپتیک تهیه گردید به آزمایشگاه انتقال داده و مورد بررسی قرار گرفت. به این ترتیب که، از هر نمونه یک اسمیر مرطوب و یک اسمیر خشک تهیه شد. اسمیر مرطوب مستقیماً با عدسی ۱۰۰ بررسی گردید. اسمیر خشک را رنگ‌آمیزی ساده (بلودو متیلن) و نیز رنگ‌آمیزی گرم انجام و با دقت و حوصله لازم مورد بررسی قرارگرفت. به‌طوری که هر لام حداقل ۱۰ دقیقه تحت بررسی قرار داشت. در صورتی که در لام مستقیم سلول پلی‌مورف یا باکتری مشاهده نمی شد؛ نمونه را به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ × g و دمای آزمایشگاه سانتریفیوژ و از رسوب آن به‌طریق فوق اسمیر تهیه و بررسی شدند.

کشت باکتریولوژیک

از نمونه CSF و یا از رسوب آن به میزان ۵۰ میکرولیتر به هر یک از محیط‌های کشت مولر هینتون آگار، تریپتیکیز سوی‌آگار و نیز تایر مارتین آگار تقویت شده تلقیح و در شرایط ۳ درصد CO_2 در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. پس از زمان گرمخانه‌گذاری محیط طبق روش‌های استاندارد باکتریولوژیک [۱۲]، از نظر رشد بررسی و رنگ آمیزی گرم انجام شد و براساس آن، پروتکل شناسایی طراحی و اجرا گردید. این پروتکل با استفاده از خصوصیات کلنی، رنگ‌آمیزی گرم و نیز تست‌های کاتالاز، اکسیداز، کواگولاز، مانیتول سالت آگار، باسیتراسین، اوپتوشین، انحلال در صفرا، تخمیر قندهای گلوکز، مالتوز، لاکتوز، ساکاروز و نیز تست‌های TSI، SIM، OF، اندول و سیترات انجام گردید.

نحوه انتقال نمونه‌ها

در مواردی که انتقال نمونه‌ها (مایع نخاع و یا کشت‌های ۲۴ ساعته)

www.SID.ir

Archive of SID

بـه آزمایشـگاه ضروری بود؛ با رعایت اصول شرایط آسپتیک و قرار دادن نمونـه در بسته مخصوص، توسط موتور سیکلت با زمانی کمتر از ۳۰ دقیقه این انتقال انجام می‌گرفت.

نتایج

طـی ۱۸ مـاه؛ یعنـی از مـرداد مـاه ۱۳۸۲ لغایـت بهمـن ماه ۱۳۸۳ مجموعـاً ۱۰۰ نمونـه مایع نخاع از بیمارانی که با علایم منتژیت به یکـی از مراکز اورژانس بیمارستان‌های بقیه‌ا...«عج»، بیمارستان شهید چمـران، بیمارسـتان ۵۰۲ ارتـش و بیمارسـتان گلسـتان ارجاع شده بودند، مورد بررسی باکتریولوژیک قرار گرفت. نتایج نشان داد، تلقیح ۱۰۰ میکرولیـتر از مـایع نخـاع با کدورت قابل مشاهده و یا رسوب حاصـل از سـانتریفیوژ بـه محـیط‌هـای آگار شوکولاتی با پایه مولر هینتون و نیز تایر مارتین تقویت شده با سرم گوساله، گلوکز، عصاره مخمـر و نـیز سیسـتئین هـیدروکلراید و گـرمخانه‌گذاری در شرایط ۵ – ۳ درصـد گاز کربنیک و دمای ۳۷ – ۳۶ درجه سانتی‌گراد، پس از ۲۴ ساعت در مقایسه با سایر محیط‌ها با رشد مطلوب همراه بود. توزیـع فراوانی ۱۰۰ نمونه CSF بیماران مبتلا به منتژیت در جدول ۱ ارایـه شده است. حدود ۶۴ درصد بیماران از بیمارستان بقیه‌ا...«عج» و ۳۶ درصـد باقـی مانده از سه بیمارستان دیگر بودند. همچنین ۶۳ نفر از بیماران مذکر و ۳۷ نفر مؤنث بودند.

جـدول ۱: توزیـع فراوانـی مطلـق و نسبی بیماران برحسب جنس و بیمارستان محل بستری

جنس	مذکر		مؤنث	
فراوانی / نام بیمارستان	تعداد	درصد	تعداد	درصد
بیمارستان بقیه‌ا...«عج»	۳۵	۵۵/۵	۲۹	۷۸/۳
بیمارستان ۵۰۲ ارتش	۷	۱۱/۱	۱	۲/۷
بیمارستان شهید چمران	۱۲	۱۹	۴	۱۰/۸
بیمارستان گلستان	۹	۱۴/۲	۳	۸/۱
جمع	۶۳	۱۰۰	۳۷	۱۰۰

توزیـع فراوانی بیماران بر اساس وضعیت استخدامی عبارت از: تحت تکفـل ۵۰ نفر، بازنشسته ۱۸ نفر، سرباز وظیفه ۸ نفر، پرسنل شاغل ۸ نفـر و سـایر مـوارد ۱۶ نفر بودند. بیشترین موارد بیماری در تمام بیمارسـتان‌هـا بـه گـروه تحـت تکفل اختصاص داشت. پس از آن، بیماران مشکوک به منتژیت مربوط به گروه باز نشسته‌ها بود.

نـتایج کشت باکتریولوژیک نشان داد، تنها در ۲۸ درصد موارد وجود باکـتری در مـایع نخـاع بیماران تأیید گردید و ۷۲ درصد موارد هیچ ارگانیسـمی در محـیط کشـت باکتریولوژیک رشد نکرد. چنانچه در جـدول ۲ نشان داده شده است؛ بیشترین موارد منتژیت باکتریایی بر حسـب نـتایج کشـت در گروه تحت تکفل و پس از آن در سربازان وظیفه بوده است.

جـدول ۲: توزیـع فراوانی مطلق و نسبی بیماران بر حسب وضعیت استخدامی، نتیجه کشت باکتریولوژیک ۱۰۰ نمونه CSF بیماران مبتلا به منتژیت

نتیجه کشت	کشت مثبت		کشت منفی		جمع	
فراوانی / وضعیت استخدامی	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
تحت تکفل	۱۵	۵۳/۵۸	۳۵	۴۸/۶	۵۰	۵۰
وظیفه	۶	۲۱/۴۲	۲	۲/۸	۸	۸
شاغل (رسمی یا قراردادی)	۱	۳/۵۷	۷	۹/۷	۸	۸
بازنشسته	۲	۷/۱۴	۱۶	۲۲/۲	۱۸	۱۸
سایر موارد	۴	۱۴/۲	۱۲	۱۶/۶	۱۶	۱۶
جمع	۲۸	۱۰۰	۷۲	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

فراوانـی باکـتری‌های جدا شده از نمونه‌های مایع نخاع در جدول ۳ ارایـه شده است. از ۸ نیروی وظیفه مبتلا به منتژیت، ۵ مورد نیسریا منتژیـتـیدیس جـدا گردید. فراوان‌ترین گونه‌های باکتریایی جدا شده، استرپتوکوکوس پنومونیه بوده و کمترین آن پسودوموناس آئروژینوزا مـی‌باشـد. نیسـریا سیکا از یک سرباز و موراکسلا کاتارالیس از یک سـالمند جدا شد. از ۴ بیمار مبتلا به منتژیت اشریشیا کولی و از یک بـیمار پسـودوموناس آئروژیـنوزا جدا گردید (جدول ۳). ۵ مورد اخیر، بیمارانـی بودنـد کـه ضـایعات تروماتـیک یا سابقه جراحی در ناحیه کمری داشتند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳: فراوانی مطلق و نسبی باکتری‌های جدا شده از کشت باکتریولوژیک، ۱۰۰ نمونه CSF

گونه باکتری جدا شده / فراوانی	تعداد	درصد
نیسریا منتژیتیدیس	۵	۱۷/۸
موراکسلا کاتارالیس	۱	۳/۵
نیسریا سیکا	۱	۳/۵
استرپتوکوکوس پنومونیه	۱۰	۳۵/۷
استافیلوکوکوس کواگولاز منفی	۴	۱۴/۲
پسودوموناس آئروژینوزا	۱	۳/۵
اشریشیا کولی	۴	۱۴/۲
هموفیلوس آنفلوانزا	۲	۷/۱
جمع	۲۸	۱۰۰

چنانچه در جدول ۴ نشان داده شده است، ۲۱ نفر از بیماران مبتلا به مننژیت باکتریایی مذکر و ۷ نفر مؤنث بودند، که ۱ نفر آنها با عضویت رسمی یا قراردادی و ۶ نفر دیگر متعلق به گروه تحت تکفل بودند. در کمتر از یک چهارم افراد مؤنث مبتلا به مننژیت باکتریایی، ارگانیسم از مایع نخاع آنها جدا گردید (۷ نفر کشت مثبت در مقابل ۲۶ نفر کشت منفی). در حالی‌که این رقم برای مردان به بیش از یک دوم (۲۱ نفر کشت مثبت در برابر ۴۶ نفر کشت منفی) می‌رسد. چنانچه در جدول ۴ نشان داده شده است، مایع نخاع ۲۸ نفر از بیماران از نظر کشت باکتریولوژیک مثبت بود. در حالی‌که در مشاهده مستقیم مایع نخاع ۳۲ نفر از بیماران ارگانیسم زنده دیده شد. به‌عبارت دیگر، در ۴ مورد، مشاهده لام مستقیم ارگانیسم زنده‌ای را نشان داد ولی در هیچ‌یک از محیط‌ها رشد باکتری و ایجاد کلنی مشاهده نشد (جدول۴).

جدول ۴: توزیع فراوانی مطلق و نسبی بیماران بر حسب جنس، نتیجه کشت باکتریولوژیک و نیز مشاهده مستقیم ۱۰۰ نمونه CSF بیماران مبتلا به مننژیت

نتایج کشت باکتریولوژیک و مشاهده مستقیم	کشت مثبت		کشت منفی		لام مستقیم مثبت		لام مستقیم منفی	
جنس / فراوانی	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
مذکر	۲۱	۷۵	۴۶	۶۳/۹	۲۲	۶۸/۸	۵۲	۷۶/۵
مؤنث	۷	۲۵	۲۶	۳۶/۱	۱۰	۳۱/۲	۱۶	۲۳/۵
جمع	۲۸	۱۰۰	۷۲	۱۰۰	۳۲	۱۰۰	۶۸	۱۰۰

جدول ۵: توزیع فراوانی مطلق و نسبی بیماران بر حسب گروه‌های سنی و نتیجه کشت باکتریولوژیک ۱۰۰ نمونه CSF بیماران مبتلا به مننژیت

نتیجه کشت	مثبت		منفی		جمع	
گروه‌های سنی / فراوانی	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
کمتر از ۱۵ سال	۱	۳/۵	۴	۵/۶	۵	۵
۲۵ – ۱۶ سال	۷	۲۵	۱۴	۱۹/۴	۲۱	۲۱
۳۵ – ۲۶ سال	۰	۰	۱۱	۱۵/۳	۱۱	۱۱
۴۵ – ۳۶ سال	۳	۱۰/۸	۱۳	۱۸/۱	۱۶	۱۶
۵۵ – ۴۶ سال	۲	۷/۱	۱۵	۲۰/۸	۱۷	۱۷
۶۵ – ۵۶ سال	۷	۲۵	۷	۹/۷	۱۴	۱۴
بیش از ۶۶ سال	۸	۲۸/۶	۸	۱۱/۱	۱۶	۱۶
جمع	۲۸	۱۰۰	۷۲	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

نتایج بررسی باکتریولوژی ۱۰۰ نمونه مایع نخاع، بر اساس توزیع فراوانی باکتری‌های جدا شده بر حسب محدوده سنی در جدول ۵ نشان داده شده است. بر اساس یافته‌های این تحقیق، بیشترین بروز مننژیت باکتریایی در گروه سنی بیش از ۶۶ سال و پس از آن گروه‌های سنی ۲۵– ۱۶ و نیز ۶۵ – ۵۶ سال می‌باشند.

بحث

مننژیت باکتریایی یکی از فوریت‌های پزشکی است و در صورتی که به‌سرعت تشخیص داده نشود و درمان نگردد، تهدید کننده حیات بیماران است. گزارشات موجود حاکی از آن است که در ۳۰ درصد موارد با مرگ و میر همراه می‌باشد [۱۱]. در برخی از کشورها، از جمله آمریکا شیوع سالانه مننژیت باکتریایی بالا است. چنانچه، در

www.SID.ir

Archive of SID

سال ۱۹۹۵ میلادی ۲ تا ۳ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر گزارش شده است [۱۳]. در تحقیق حاضر، بر اساس کشت باکتریولوژیک ۲۸ درصد بیماران مبتلا به مننژیت باکتریایی تشخیص داده شدند. در حالی‌که گودرزی و همکاران در سال ۱۳۸۱ بر اساس کشت باکتریولوژیک تنها ۲۳/۵ درصد موارد مننژیت باکتریایی را ذکر نمودند [۱۴]. بر اساس آمار ارایه شده توسط وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، در سال‌های ۱۳۷۶، ۱۳۷۷، ۱۳۷۸، ۱۳۷۹، ۱۳۸۰ و ۱۳۸۱ موارد مننژیت با کشت باکتریولوژیک مثبت به ترتیب ۱۳/۸ ، ۱۴/۵، ۱۱/۴، ۶/۴، ۱/۶ و ۳/۶ درصد گزارش شده است؛ بر اساس این گزارش، با آن که بروز مننژیت طی سال‌های فوق افزایش داشته است. با این حال، میزان موارد کشت باکتریایی روند کاهشی را نشان می‌دهد [۱۵]. این درحالی است که در این تحقیق میزان کشت باکتریولوژیک مثبت ۲۸ درصد به‌دست آمده است. در این تحقیق، فراوان‌ترین باکتری جدا شده از ۱۰۰ نمونه CSF بیماران مبتلا به مننژیت، استرپتوکوکوس پنومونیه بود (۳۵/۷ درصد). تحقیقات مختلف، موارد بروز را برای استرپتوکوکوس پنومونیه متفاوت گزارش کرده‌اند. مثلاً، جونز و همکاران فراوانی استرپتوکوکوس پنومونیه را در نمونه‌های CSF بیماران مبتلا به مننژیت ۱۱ درصد گزارش کرده‌اند. در حالی‌که دی‌دریک و همکاران نشان دادند، شایع‌ترین باکتری عامل مننژیت استرپتوکوکوس پنومونیه به میزان ۵۱ درصد می‌باشد. این محققین میزان مرگ و میر را برای استرپتوکوکوس پنومونیه ۳۰ درصد و برای نیسریا منژیتیدیس ۷ درصد گزارش نموده‌اند [۱۶]. احتمالاً دلیل این اختلاف، برنامه‌های واکسیناسیون پوشش دهنده این باکتری باشد [۱۷]. در تحقیق حاضر تنها ۵ مورد نیسریا منژیتیدیس از ۱۰۰ نمونه CSF بیماران مبتلا به مننژیت جدا گردید و بدون وجود هیچ‌گونه تلفاتی، تنها در یک مورد عود بیماری رخ داد. بررسی‌های سرولوژیک نشان داد، ۴ عدد از سویه‌های جدا شده به سروتیپ C نیسریا منژیتیدیس تعلق دارند که با وجود واکسیناسیون این تعداد دور از انتظار است. یافته‌های بیشتر حکایت از آن داشت که در ۴ نفر از بیماران مبتلا به مننژیت منگوککی میزان CH_{50} کمتر از حد طبیعی است. دلیل این امر به‌طور کامل مشخص نیست ولی گزارشات دیگر نیز نشان دهنده افزایش بروز مننژیت منگوککی ناشی از سروتیپ C می‌باشد [۱۷، ۱۸].

در هر حال، با توجه به عدم اطلاع دقیق از وضعیت مننژیت باکتریایی بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌های نظامی؛ در مدت ۱۸ ماه و در ۴ بیمارستان نظامی در دسترس، به منظور تعیین اتیولوژی مننژیت‌های باکتریایی طراحی و انجام گردید. در خلال این مدت، ۱۰۰ نمونه CSF (جدول ۱) با حجم ۲ تا ۱۰ میلی‌لیتر از بیماران با تشخیص مننژیت توسط پزشک متخصص و یا رزیدنت‌های کشیک با رعایت شرایط آسپتیک تهیه و به طور استریل به آزمایشگاه ارسال گردید. بر اساس کدورت ماکروسکپی، نمونه‌ها به دو گروه تقسیم شدند، گروه اول شامل: نمونه‌هایی که بدون سانتریفیوژ در لام مستقیم آنها سلول‌های پلی‌مورف مشاهده می‌شد. گروه دوم شامل نمونه‌های شفاف بود که پس از سانتریفیوژ از رسوب حاصل لام مستقیم تهیه و کشت باکتریولوژیک انجام گردید. در سال‌های اخیر بر سانتریفیوژ کردن مایع نخاع و اثر آن بر بهبود مرفولوژی سلول‌ها و نیز باکتری مشاهده شده در لام مستقیم و نیز افزایش نتایج مثبت کشت، تأکید شده است ولی اغلب موارد سانتریفیوژ کردن نمونه با ۱۰۰۰ تا ۳۰۰۰ دور به‌مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه توصیه شده است [۱۶، ۲۰]. در این تحقیق از میکروفیوژ با حداقل دور ۵۰۰۰ و حداکثر ۱۰۰۰۰ به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه استفاده شد. به‌این ترتیب در ۱۰۰ درصد موارد کشت مثبت در لام مستقیم نیز باکتری مشاهده گردید. تنها در ۴ مورد در اسمیر مرطوب ارگانیسم زنده مشاهده گردید، در حالی که در محیط‌های مختلف و شرایط متفاوت باکتری رشد نکرد.

در هر حال، سانتریفیوژ کردن و تهیه اسمیر از رسوب CSF و نیز رنگ‌آمیزی آن امری مرسوم شده است [۲۱]. اما باید در نظر داشت که عدم تهیه اسمیر مناسب، عدم ثابت کردن آن و نیز خراب بودن محلول‌های رنگ‌آمیزی عواملی هستند که اختلال ایجاد می‌کنند. به‌علاوه ممکن است در جریان رنگ‌آمیزی و شستشوی لام، ارگانیسم‌ها از سطح آن کنده شده و بنابراین، نتیجه منفی گزارش گردد. از این رو، در این تحقیق از لام مرطوب جهت مشاهده مستقیم ارگانیسم‌های زنده موجود در نمونه‌های CSF (سلول‌های باکتریایی، گلبول‌های سفید و گلبول‌های قرمز) استفاده گردید. به این ترتیب، با بالا بردن دقت تشخیص از نتیجه منفی

www.SID.ir

Archive of SID

جلوگیری شد. بریک و همکاران از مایع نخاع بیماران مبتلا به مننژیت، باکتری‌های مختلف گرم منفی و گرم مثبت را جدا نمودند و نشان دادند، این بیماران در اثر آسیب‌های تروماتیک به مننژیت با منشاء عفونت بیمارستانی مبتلا شده‌اند [۲۲، ۲۳]. در این تحقیق نیز باکتری E. Coli و استافیلوکوکوس کواگولاز منفی از بیماران با سابقه آسیب‌های تروماتیک نخاعی جدا گردید؛ این امر حاکی از آن است که احتمال آلودگی این افراد در بیمارستان محل بستری وجود دارد. تحقیقات موجود حاکی از آن است که قبل از واکسیناسیون علیه هموفیلوس آنفلوانزا، تقریباً بیش از ۵۰ درصد موارد مننژیت باکتریایی به این باکتری اختصاص داشت. همچنین عامل ۱۵ درصد مننژیت‌های باکتریایی استرپتوکوکوس پنومونیه بود و در بچه‌های زیر ۵ سال نیسریا منژیتیدیس بیش از ۲۰ تا ۳۵ درصد موارد مننژیت را تشکیل می‌داد [۲۴]. براساس یافته‌های این تحقیق، هموفیلوس آنفلوانزا تنها از دو بیمار جدا گردید. همچنین، نظر به این‌که هدف اصلی این تحقیق، نیروهای نظامی و خانواده آنها بود، تنها یک مورد بیمار کمتر از ۱۵ سال با علایم مننژیت وجود داشت. نتایج حاکی از آن است که، ۵ مورد مننژیت منگوکوکوسی در سربازان در محدوده سنی ۲۳ – ۲۰ ساله در طی ۱۸ ماه رخ داده است. این امر نشان دهنده کاهش چشم‌گیر بیماری مننژیت منگوکوکوسی بعد از طرح واکسیناسیون می‌باشد. از آنجا که، همه سربازان قبل از ورود به خدمت سربازی علیه مننژیت منگوکوکی واکسینه می‌شوند و بنابراین، انتظار طبیعی آن است که این افراد به مننژیت منگوکوکی به‌ویژه سروتیپ‌های واکسن مبتلا نشوند. بررسی علل مننژیت منگوکوکی در سربازان واکسینه شده نشان داد، در بدن این افراد سطح CH_{50} کمتر از حد طبیعی است [۲۵]. بدیهی است تحقیقات تکمیلی دیگر می‌تواند ما را در اتیولوژی دقیق بیماری در این افراد رهنمون سازد. هر چند در تحقیقات مختلف شیوع مننژیت ناشی از استرپتوکوکوس پنومونیه متفاوت گزارش شده است، اما نتایج این تحقیق نشان می‌دهد؛ شایع‌ترین عامل مننژیت‌های باکتریایی (حدود ۳۵/۷ درصد) در افراد سالمند (محدوده سنی ۶۴ – ۴۳ سال) ناشی از استرپتوکوکوس پنومونیه می‌باشد. شاید علت این امر عدم واکسیناسیون مناسب در سالمندان باشد. با توجه به هزینه‌های سنگین درمان، احتمالاً اجرای برنامه واکسیناسیون به‌ویژه در افراد تحت تکفل (سنین بالای ۵۵ سال) نیروهای نظامی بتواند ضمن کاهش موارد بیماری از صرف هزینه‌های سنگین نیز جلوگیری نماید.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از یک طرح تحقیقاتی پژوهشکده طب‌رزمی است که اجرای آن بدون مساعدت و راهنمایی‌های بسیاری از محققین و دست‌اندرکاران امور بهداشت و درمان نیروهای مسلح میسر نبود. جا دارد از زحمات آنان به‌ویژه دکتر حسن ابوالقاسمی و دکتر سید محمدحسین هاشمی مدنی، که ما را در انجام این طرح تحقیقاتی یاری نموده‌اند تشکر و قدردانی نماییم.

منابع

1- Jajosky AR and Groseclose LS. Evaluation of reporting timelines of public health surveillance system for infectious diseases. BMC Public Health 2004;4(29):1-9.

2- Wasilauskas BL and Hampton KD. Determination of bacterial meningitidis: a retrospective study of 80 cerebrospinal fluid specimens evaluated by four in vitro methods. J Clin Microbiol 1982;16(3):531-535.

3- Artenstein MS, Schneider H and Tingley MD. Meningococcal infections: Prevalence of serogroups causing disease in US army personnel in 1964-1970. Bull World Health Organ 1971;45(3):275-278.

4- Griffiss JM, Broud DD, Silver CA and Artenstein MS. Immunoepidemiology of meningococcal disease in military recruits. I. A model for serogroup independency of epidemic potential as determined by serotyping. J Infect Dis 1977;136(2): 176-186.

5- Caugant DA, Hoiby EA, Rosenqvist E, Froholm LO and Selander RK. Transmission of Neisseria meningitidis among asymtomatic military recruits and antibody analysis. Epidemiol Infect 1992;109(2):241-253.

6- Stroffolini T, Rosmini F, Curiano CM. A one year survey of meningococcal disease in Italy. Eru J Epidemiol 1987;3(4):399-403.

7- Stroffolini T. Vaccination campain against meningococcal disease in army recruits in Italy. Epidemiol Infect 1990;105(3): 579-583.

8- Spiegel A, Quenel P, Sperber G and Meyran M. Evalution of systemic anti-meningococcal vaccination strategy in French military recruits. Sante 1996;6(6):383-388.

www.SID.ir

Archive of SID

9- Mimouni D, Gdalevich M, Mandel Y, Haim M, Ashkenazi I and Block C et al. Meningococcal polysacharide vacciantion of military recruits in israel preliminary assessment of vaccine effect. Scand J Infect Dis 1998;30(3):263-264.

10- Bergman BP, Haton JC and Green AD. Effectiveness of the meningococcal vaccination progamme for British Armed Forced recruits. Commun Dis Public Health 2001;3(4):298-299.

11- Bartfied AA. Bacterial meningitidis. Prim Care Update Ob/Gyns 2000;7(2):49-54.

12- Mohon RC and Manuselis G. Text book of Diagnostic Microbiology. Second edition, WB Saunders Company. Philadephia; 2000. P. 329–600.

13- Schuchat A, Robinson K and Wenger JD. Bacterial meningitidis in the United States in 1995. N Engl J Med 1997;337:970-976.

۱۴- گودرزی حسین، کاظمی بهرام، یارایی کامبیز، نویدی معصومه و بنده‌پور مژگان. مقایسه روش PCR و روش باکتریولوژیک در تشخیص منتژیت‌های باکتریال. نشریه پزشکی یاخته، تابستان ۱۳۸۱؛ سال چهارم، شماره ۱۴. صفحات: ۱۰۴- ۱۰۱.

۱۵- گویا محمد مهدی، زهرایی سید محسن، شیرازی محمد رضا و پدرام ناهید. اطلاعات و آمار بیماری‌های واگیر در ایران (۱۳۸۱ – ۱۳۵۶). جلد اول، مرکز مبارزه با بیماری‌ها، نشر صدا ۱۳۸۳؛ صفحات: ۲۱۰ – ۱۳۳.

16- Van de Beek D, de Gans J, Spanjaard L, Weisfelt M, Reitsma JB and Vermeulen M. Clinical features and prognostic Factors in Adults with Bacterial Meningitis. N Engl J Med 2004;351(18):1849-59.

17- Jones EM, Draghi CD, Karlowsky AJ, Sahm FD and Bradley SJ. prevalence of antimicrobial resistance in bacterial isolated firm central nervous system specimens as reported by U S hospital laboratories from 2000 to 2002. Annal of Clinical Microbiology and Antimicrobials 2004;3(3): 1-9.

18- Stefanelli P, Fazio C, Neri A, Sofia T and Mastrantoio P. Emergence in Italy of a Neisseria meningitidis Clone with decreased susceptibility to Penicillin. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2004;(3106):31-3.

19- Puricelli BCR, Kupek E and Westrupp BHM. Three decades of meningococcal disease in the state of Santa Catarina, Brazil. Braz J Infect Dis 2004;8(3):1-7.

20- Shanholtzer JC, Schaper JP and Peterson RL. Concentration Gram Stain Smear Prepared with a Cytospin Centrifuge. J Clin Microbiol 1982;16(6):1052-1056.

21- Health Protection Agency. Investigation of Cerebrospinal Fluid. Standard Operation Procedure 2003;27:1-20.

22- Khwannimit B, Chayakul P, Geater A. Acute bacterial meningitis in adults: a 20 year review. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2004 Dec;35(4):886-92.

23- Briggs S, Ellis-Pegler R, Raymond N, Thomas M, Wilkinson L. Gram-negative bacillary meningitis after cranial surgery or trauma in adults. Scand J Infect Dis 2004;36(3):165-73.

24- Askari S and Cartwright CP. The Changing Epidemiology of Bacterial Meningitis: Implication for the Clinical Laboratory. Clincal Microbiology Newsletter 1998;20(5):33-40.

25- Ataee RA, Mehrabi-Tavana A, Ghorbani GH, Mosavi SA, Karimi AA and Hajia M. Recurrent Meningococcal Meningitidis in an Iranian Conscript: a Brief Report. Journal of clinical Microbiology Newsletter 2005; inpress.

www.SID.ir