مقاله تحقیقاتی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران

سال چهارم ● شماره ۱ ● صفحات ۷۷۱ تا ۷۷۹ ● بهار ۱۳۸۵

سروتایپینگ نایسریا منتژیتیدیس در سربازان مبتلا به منتژیت مراجعه کننده به ۵ بیمارستان نظامی شهر تهران طی سال های ۱۳۸۴-۱۳۸۱

دکتر رمضانعلی عطائی[۱]، دکتر علی مهرابی توانا[۲]، دکتر غلامعلی قربانی[۳]، دکتر سید محمد جواد حسینی شکوه[۴]، دکتر مسعود حاجیا[۲]، دکتر علی کرمی[۵]

چکیده

سابقه و هدف: منتژیت منگوکوکی از عفونت های شدید، با مرگ و میر بالا می باشد. با وجود واکسیناسیون الزامی علیه منتژیت منگوکوکی، گزارشات پراکنده ای از بروز این بیماری در بین سربازان وظیفه گزارش می گردد. لذا، هدف این تحقیق، سروتایپینگ منتژیت های منگوکوکوسی در بیماران مبتلا به منتژیت مراجعه کننده به ۵ بیمارستان نظامی است.

مواد و روش ها: در این تحقیق مقطعی، تجربی به منظور تعیین سروتیپ منتژیت های منگوکوکی در سربازان مراجعه کننده به ۵ بیمارستان وابسته به نیروهای نظامی، این مطالعه طراحی و انجام گردید. در این تحقیق از محیط کشت تایرمارتین تقویت شده و نیز روش های استاندارد باکتریولوژیک استفاده گردید. نمونه به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰xg و در دمای آزمایشگاه سانتریفیوژ گردید و از رسوب آن کشت باکتریولوژیک انجام، اسمیر تهیه و بررسی شد. شناسایی باکتری های جدا شده با کمک آزمایشات بیوشیمیایی انجام گردید. باکتری های دیپلوکوکوس گرم منفی که به عنوان نایسریا منتژیتیدیس شناسایی شدند، با استفاده از آنتی سرم اختصاصی تعیین سروتیپ گردیدند.

یافته ها: یافته های این تحقیق نشان داد، از ۱۲ نفر سرباز که به علت منتژیت بستری شدند، تنها از ۶ نفر نایسریا منتژیتیدیس جدا گردید که ۵ مورد ناشی از سروتیپ C و یک نفر در اثر سروتیپ B تشخیص داده شدند. یک نفر مبتلا به منتژیت ناشی از نایسریا سیکا و از سه نفر دیگر هیچ شواهد باکتریولوژیک به دست نیامد. در مایع نخاع دو نفر از سربازان مبتلا به منتژیت منگوککی، به علت تجویز آنتی بیوتیک قبل از LP باکتری رشد نکرد، در حالی که در لام مستقیم دیپلوکوکوس گرم منفی مشاهده شد. در یک مورد عود عفونت وجود داشت. اندازه گیری اجزای کمپلمان در سرم ۵ بیمار مبتلا به منتژیت منگوکوکوسی نشان داد، غلظت اجزای C_3، C_4 و CH_{50} کمتر از حد طبیعی بود (۸۰ میلی گرم در هر دسی لیتر).

نتیجه گیری: تنها ۶ مورد نایسریا منتژیتیدیس از بیماران مشکوک به منتژیت جدا شد که همگی سرباز بودند. با وجود اجرای برنامه واکسیناسیون سربازان علیه منگوکک، ابتلاء به این بیماری نیازمند علل یابی است. در هر حال، با توجه به بروز ۶ مورد منتژیت منگوکوکوسی در خلال ۳ سال که در نقاط مختلف کشور (تهران، شیراز، یزد و عسلویه) رخ داده است، به نظر می رسد که برنامه واکسیناسیون جاری موثر و قادر به کنترل بیماری بوده باشد. هر چند که نقص سیستم ایمنی در افراد مبتلا به منتژیت منگوکوکوسی وجود داشت، ریشه کنی کامل بیماری نیازمند اجرای سایر روش های پیش گیری است.

کلمات کلیدی: سرباز، سروتایپینگ، منتژیت منگوکوکوسی، نایسریا منتژیتیدیس

۱- استادیار، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا ... (عج)، دانشکده پزشکی، پژوهشکده طب رزمی، مرکز تحقیقات بهداشت نظامی(* نویسنده مسئول)

۲- دانشیار، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا ... (عج)، دانشکده پزشکی، پژوهشکده طب رزمی، مرکز تحقیقات بهداشت نظامی

۳- استادیار، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا ... (عج)، دانشکده پزشکی، پژوهشکده طب رزمی، مرکز تحقیقات بهداشت نظامی

۴- استادیار، دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران، دانشکده پزشکی، گروه عفونی، مرکز آموزشی- درمانی ۵۰۵

۵- استادیار، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا ... (عج)، دانشکده پزشکی، پژوهشکده طب رزمی، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی

www.SID.ir

مقدمه

نایسریا منتژیتیدیس یا منگوکک باکتری گرم منفی و بیماریزای انسانی بوده ویکی ازمهمترین عوامل منتژیت باکتریال درانسان است. براساس آنتی ژن کپسولی ۱۳ سروتیپ از این باکتری شناسایی شده است که عبارتند از: A، B، C، D، H، I، K، L، X، Y، Z، W-۱۳۵ و E-۲۹. پراکندگی این سویه ها در نقاط مختلف جهان متفاوت است. مثلا منتژیت های منگوکوکی در آفریقا اغلب ناشی از سروتیپ A می باشد. در حالی که در آمریکا سروتیپ A مسئول ۱ درصد ولی سروتیپ B، ۴۶ درصد و تیپ C، ۴۸ درصد و نیز تیپ های W -۱۳۵ و E- ۲۹ تنها مسئول ۵ درصد منتژیت های منگوکوکی هستند (۱).در اروپا و روسیه سروتیپ های A و C و در فلسطین اشغالی سروتیپ های C و Y غالب می باشند (۳،۲). شیوع سالانه منتژیت منگوکوکی در سربازان و نیروهای نظامی چند برابر غیر نظامیان است، به طوری که حتی در اپیدمی ها ۱۷ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر نیز گزارش شده است(۴، ۵). عقیده براین است که در نیروهای نظامی به دلیل تراکم جمعیتی و تماس نزدیک، فشارهای روحی و روانی، دفاع بدن کاهش یافته و در نتیجه منگوکک موجود در گلوی ناقلین فعال شده و به سرعت در بین افراد انتشار می یابد (۶). بدین ترتیب عفونت های منگوکوکی در این افراد افزایش چشم گیر دارد و به صورت اپیدمی بروز می نماید. لذا، کشورهای مختلف اقدام به شناسایی سروتیپ های منطقه ای، تهیه واکسن و واکسیناسیون گسترده نیروهای نظامی کرده اند. نیروهای اشغالگر قدس، واکسن سویه های بومی منگوکک را تهیه و نیروهای نظامی را واکسینه نموده اند(۷). در ارتش انگلیس نیز واکسیناسیون منتژیت انجام شده و ادامه تحقیقات در آن کشور منجر به معرفی واکسن جدیدی شده که در حال بررسی است (۸، ۹). در فرانسه نیز واکسن تیپ های مختلف منگوکک تهیه و نیروهای نظامی را واکسینه می نمایند(۱۰). در آمریکا و فنلاند از سال ۱۹۷۰ نیروهای نظامی را در مقابل تیپ بومی منگوکک واکسینه کرده اند (۱۲،۱۱). در جمهوری اسلامی ایران تحقیق مدونی در خصوص تعیین سروتیپ های غالب منگوکک و نیز تهیه واکسن مناسب صورت نگرفته است. آمار منتژیت منگوکوکی ثبت شده توسط اداره مبارزه با بیماری های وزارت بهداشت به طور متوسط سالانه حدود ۳۰۰ مورد گزارش شده است که چندان دقیق نیست (۱۳). در جمهوری اسلامی ایران، همه سربازان قبل از ورود به خدمت، علیه منتژیت منگوکوکی واکسینه می شوند و بنابراین، انتظار طبیعی آن است که این افراد به منتژیت منگوکوکی به ویژه سروتیپ های واکسن مبتلا نشوند. با این حال، مواردی از منتژیت منگوکوکی در سربازان رخ می دهد. لذا، با توجه به اهمیت موضوع و تهدیدهای موجود برای نیروهای نظامی، تحقیق در خصوص تعیین سروتیپ های بومی در نیروهای نظامی، به ویژه در افراد تازه وارد (سربازها) بسیار حائز اهمیت است. لذا، این تحقیق به منظور تعیین سروتیپ های نایسریا منتژیتدیس جدا شده از بیماران مبتلا به منتژیت ارجاع شده به ۵ بیمارستان نیروهای نظامی طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش ها

در این تحقیق محیط های کشت عبارت بودند از مولر هینتون آگار (Muler Hintone Agar)، مولرهینتون براث (Muler Hintone Broth)، تریپتی کاز سوی آگار (Trypticase Soy Agar)، تریپتی کاز سوی براث (Trypticase Soy Broth)، تایر مارتین آگار (Martin Agar - Thayer)، تیوگلی کولات، شیر بدون چربی (Skim Milk) ،سیستئین هیدروکلراید، گلوکز منوهیدرات، مالتوز منوهیدرات، پراکسید هیدروژن، معرف اکسیداز و عصاره مخمر (Yeast extract)، از Merk خون دفیبرینه گوسفند و سرم گوساله از موسسه رازی؛ ویتامین K، ویتامین B۱۲ از دارو پخش و فیلتر میلی پور ۰/۴۵میکرومتری و نیز کاغذ صافی واتمن شماره ۲ از سارتوریوس تهیه گردید. همچنین، آنتی سرم های گروه A، B، C، D، Y، Z۱ و W -۱۳۵ از دیفکو تهیه گردید. سایر موارد مورد نیاز در آزمایشگاه موجود بود.

تهیه محیط کشت برای نایسریا منتژیتیدیس

در این تحقیق، محیط کشت پایه مولر هینتون آگار، مولر هینتون براث، تریپتی کاز سوی آگار، تریپتی کاز سوی براث، و نیز تایر مارتین آگار بر اساس دستورالعمل کارخانه سازنده تهیه و پس از استریل کردن آنها با اتوکلاو ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه، در شرایط کاملا آسپتیک افزودنی های زیر به آنها اضافه شدند.

۱- سرم گوساله به نسبت ۵ درصد

۲- سیستئین هیدروکلراید به نسبت ۰/۰۲ درصد

۳- عصاره مخمر به نسبت ۵ گرم در لیتر

۴- ویتامین K به نسبت ۰/۵ میلی لیتر در هر لیتر

۵ - گلوکز منوهیدرات ۵ گرم در لیتر

پس ازکنترل عدم آلودگی، محیط ها دریخچال با درجه حرارت ۵ تا ۱۰

Archive of SID
www.SID.ir

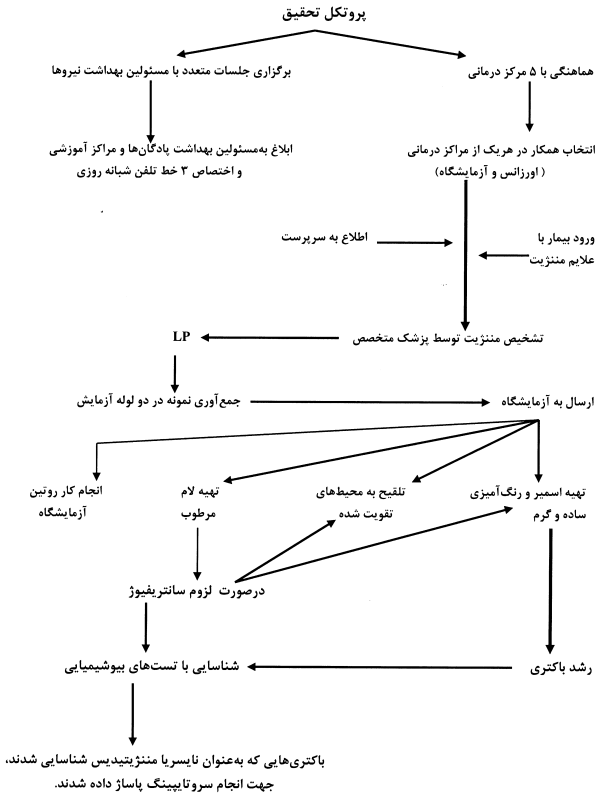
درجه سانتی گراد قرار داده و در موقع لزوم استفاده شدند. برای تهیه محیط کشت شوکولاتی، به محیط کشت فوق، پس از استریل نمودن آن و در دمای ۸۵درجه سانتی گراد به نسبت ۲۰ درصد خون دفیبرینه گوسفند اضافه می شد.

جمع آوری نمونه CSF و بررسی باکتریوژیک آنها

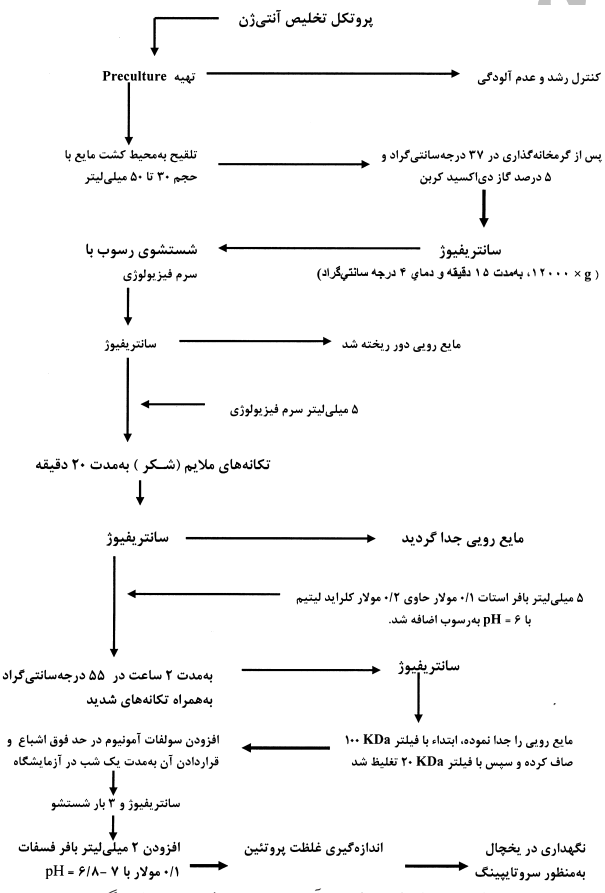
از مهر ماه ۱۳۸۱ لغایت مهر ۱۳۸۴، ۱۲ نمونه مایع نخاع سرباز مبتلا به منتژیت مراجعه کننده به بیمارستان های مورد نظر، توسط پزشک متخصص با رعایت شرایط آسپتیک جمع آوری و بررسی شد. با هماهنگی متخصص عفونی و رزیدنت های کشیک ۵ بیمارستان وابسته به نیروهای نظامی در تهران (بیمارستان بقیه ا... (عج)، بیمارستان ۵۰۵ارتش، بیمارستان ۵۰۲ارتش، بیمارستان شهید چمران و بیمارستان گلستان)، توسط پزشک متخصص مایع نخاع بیمار جمع آوری شد. سپس بدون دخالت در کار روتین آزمایشگاه های تشخیصی، پس از تهیه لام مستقیم و نیز کشت باکتریولوژیک در محیط های روتین و نیز در محیط های اختصاصی، قسمتی از نمونه های ارسالی را به آزمایشگاه تحقیقاتی انتقال داده شد که مورد بررسی بیشتر قرار گرفتند. به این ترتیب، از هر نمونه یک اسمیر مرطوب و یک اسمیر خشک تهیه شد. اسمیر مرطوب مستقیما با عدسی ۱۰۰ بررسی گردید. اسمیر خشک را رنگ آمیزی ساده (بلودو متیلن) و نیز رنگ آمیزی گرم انجام و با دقت و حوصله لازم مورد بررسی قرار گرفت به طوری که هر لام حداقل ۱۰دقیقه تحت بررسی قرار داشت. در صورتی که در لام مستقیم سلول پلی مورف یا باکتری مشاهده نمی شد نمونه را به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ و دمای آزمایشگاه سانتریفیوژ و از رسوب آن به طریق فوق کشت انجام و اسمیر نیز تهیه و بررسی می شد. در صورت جدا شدن باکتری دیپلوکوکوس گرم منفی که با مشخصات نایسریا منتژیتیدیس مطابقت داشته باشد، سروتیپ آن نیز تعیین گردید (نمودار های ۲،۱).

سروتایپینگ منتگوکک

برای تعیین گروه سرمی سویه های جدا شده منتگوکک به این گونه عمل گردید. ابتدا ژل آگاروز ۱/۵ درصد تهیه شد؛ برای تهیه ژل آگاروز ۱/۵ گرم آگاروز را به ۱۰۰ میلی لیتر بافر فسفات استریل افزوده و آن را حرارت داده تا به جوش آید. پس از ۱ دقیقه جوشیدن محلول، آن را در پلیت های ۸سانتی متری توزیع گردید، به طوری که ضخامت ژل به حدود ۲ میلی متر برسد. پس از سرد شدن و ایجاد حالت ژله،



نمودار ۱ - مراحل پروتکل روش کار



نمودار ۲ - مراحل تخلیص آنتی ژن به منظور سروتایپینگ

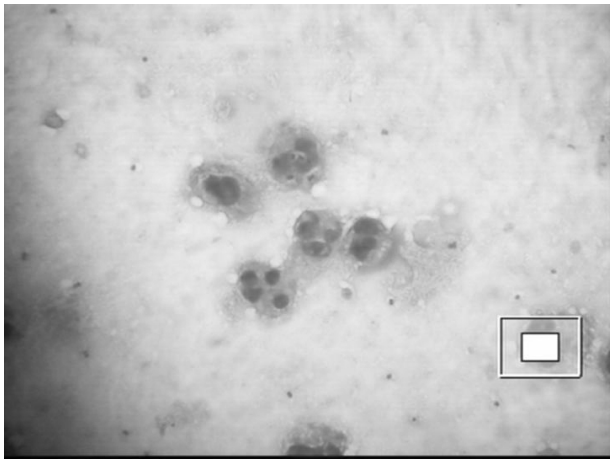
Archive of SID
www.SID.ir

در هر پلیت ۶ یا ۷ حفره ایجاد گردید. برای تعیین سروتایپ هر یک از باکتری های جدا شده از مایع نخاع بیماران مبتلا به مننژیت از عصاره استخراج شده سلول ها استفاده شد. به این ترتیب که ۱۰۰ میکرولیتر عصاره تغلیظ شده حاصل از سوسپاسیون باکتری در حفره مرکزی وارد گردید و به هر یک از حفره های کناری نیز ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از آنتی بادی های مورد نظر (هر یک از سروتیپ ها) قرار داده شد. پلیت های تهیه شده را به مدت ۶ تا ۸ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی گراد و پس از آن به مدت ۲۴ ساعت در یخچال ۴ تا ۱۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت نگهداری در یخچال در صورتی که خطوط رسوبی ایجاد شده بود، آن رقت، ملاک عملیات بعدی قرار می گرفت و در صورتی که خطوط رسوبی ایجاد نمی شد. آزمایش با غلظت های دیگر تکرار می گردید. برای تعیین گروه سرمی سویه های جدا شده برای تمام آنتی سرم های موجود به طریق فوق سروتایپینگ انجام شد(۱۴).

یافته ها

نتایج مشاهده مستقیم نمونه های مایع نخاع

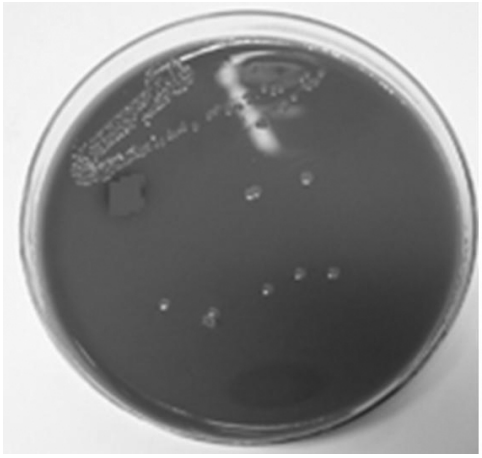
طی سه سال، یعنی از مهرماه ۱۳۸۱ لغایت مهرماه ۱۳۸۴ مجموعا ۱۲ نمونه مایع نخاع از سربازانی که با علایم مننژیت به یکی از مراکز اورژانس بیمارستان های بقیه الاعظم (عج)، بیمارستان شهید چمران، بیمارستان ۵۰۲ ارتش، بیمارستان ۵۰۵ ارتش، و بیمارستان گلستان ارجاع شده بودند، مورد بررسی باکتریولوژیک قرار گرفت. نتایج نشان داد، مشاهده لام مستقیم تهیه شده از مایع نخاع بیمار مبتلا به مننژیت، چه به صورت مرطوب و چه به صورت رنگ شده، سلول های باکتری و نیز سلول های پلی مورف قابل مشاهده هستند(شکل ۱).



شکل ۱- لام رنگ آمیزی گرم از نمونه مایع نخاع بیمار مبتلا به مننژیت منگوکک

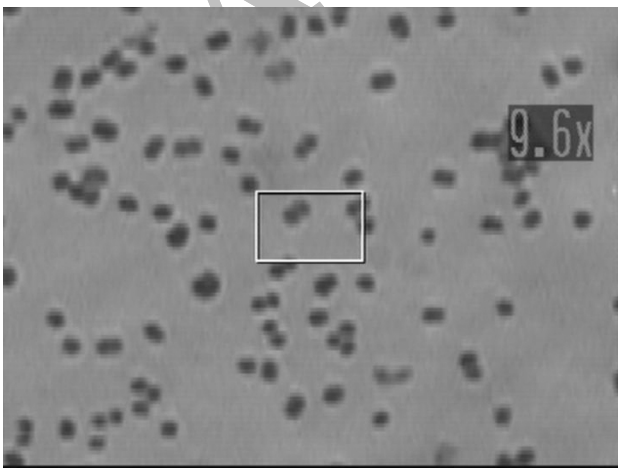
نتایج کشت باکتریولوژیک

تلقیح ۱۰۰ میکرولیتر از مایع نخاع با کدورت قابل مشاهده و یا رسوب حاصل از سانتریفیوژ به محیط های آگار شوکولاتی با پایه مولر هینتون و نیز تاریر مارتین تقویت شده با خون گوسفند یا سرم گوساله، گلوکز، عصاره مخمر و نیز سیستئین هیدروکلراید و گرمخانه گذاری در شرایط ۵ -۳ درصد گاز کربنیک و دمای ۳۷ -۳۶ درجه سانتی گراد، پس از ۲۴ ساعت در مقایسه با سایر محیط ها با رشد مطلوب همراه بود (شکل ۲). در این محیط کشت، شکل ظاهری کلونی ها نشانه ای از الگوی دیپلوکوکوس را نشان می دهد.



شکل ۲- کشت ۲۴ ساعته مایع نخاع بیمار مشکوک به مننژیت منگوکوکوسی، کلونی های رشد کرده دیپلوکوکوس را نشان می دهند

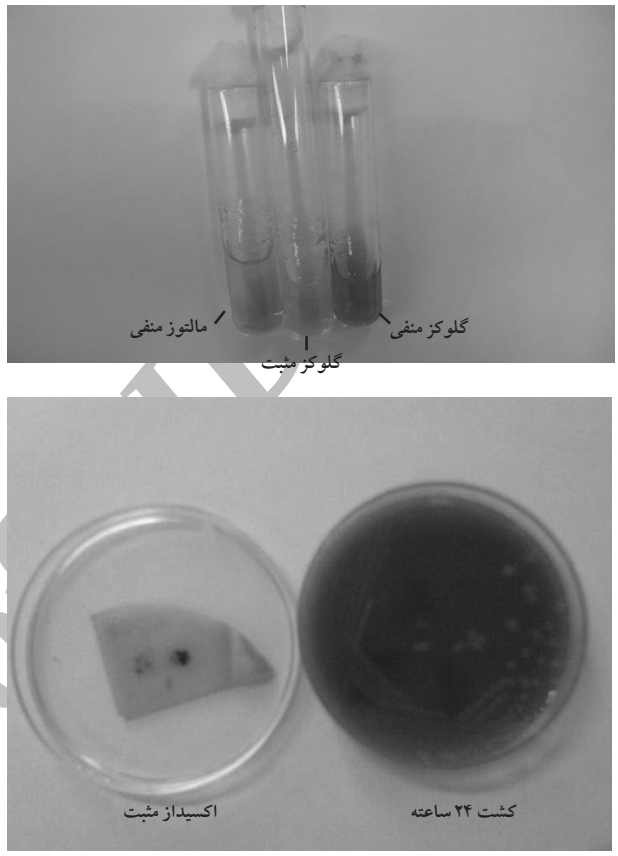
رنگ آمیزی از کلنی های ۲۴ ساعته بیمار مشکوک به مننژیت منگوکوکوسی، باکتری های گروی با آرایش دیپلوکوکوس گرم منفی (شکل ۳) را نشان داد. شناسایی باکتری های جدا شده براساس نوع باکتری جدا شده مثلا برای شناسایی باکتری های کروی گرم منفی با استفاده از تست های شماتیک ارایه شده در شکل ۴ انجام گردید.



شکل ۳- دیپلوکوکوس های گرم منفی جدا شده از مایع نخاع بیمار مبتلا به مننژیت

Archive of SID
www.SID.ir

شناسایی باکتری های گرم مثبت کروی با استفاده از تست های اکسیداز، تخمیر گلوکز و مالتوز، انجام گردید. در شکل ۴ تست های مورد استفاده برای شناسایی نایسریا منتژیتیدیس نشان داده شده است.



شکل ۴ - آزمایشات لازم برای شناسایی نایسریا منتژیتیدیس

براساس مشاهدات کلینیکی تنها بیمارانی که به منتژیت منگوکوکوسی مبتلا بودند راش های ماکوپاپولر در سراسر بدن به ویژه در اندام ها وجود داشت (شکل ۵).

فراوانی باکتری های جدا شده از نمونه مایع نخاع سربازان مبتلا به منتژیت در جدول ۱ نشان داده شده است. موارد منتژیت منگوککی بر حسب نتایج کشت و لام مستقیم در نمونه مایع نخاع سربازان وظیفه مبتلا به منتژیت نشان داده شده است.

سروتایپینگ منگوکوکوس های جدا شده از مایع نخاع بیماران مبتلا به منتژیت

نتایج سروتایپینگ منگوکوکوس های جدا شده از مایع نخاع بیماران مبتلا به منتژیت منگوکوکوسی در جدول ۲ نشان داده شده است. چنانچه به خوبی نمایان است، ۵ سویه جدا شده به سروتیپ C تعلق دارند و تنها یکی از سویه های جدا شده به سروتیپ B تعلق داشت.

شکل ۵ - راش های ماکوپاپلر در اندام های فوقانی، تحتانی و تنه بیمار مبتلا به منتژیت منگوکوکوسی

جدول ۱- فراوانی باکتری های جدا شده از نمونه CSF، ۱۲ سرباز مبتلا به منتژیت

گونه باکتری	کشت مثبت	کشت منفی	لام مستقیم مثبت	لام مستقیم منفی	جمع کل
نایریا منتژیتیدیس	۶	۳	۹	۰	۹
سایر	۱	۲	۱	۲	۳
جمع	۷	۵	۱۰	۲	۱۲
		۱۲		۱۲	

www.SID.ir

جدول ۲- سروتایپینگ ۶ سویه نایسریا منتژیتیدیس جدا شده از مایع نخاع بیماران مبتلا به منتژیت، تعیین سروتیپ با آنتی سرم های ساخت شرکت دیفکو انجام شده است.

سروتیپ باکتری نام بیمار	آنتی سرم تیپ A به شماره کاتالوگ ۲۲۲۸-۵۰-۱	آنتی سرم تیپ B به شماره کاتالوگ ۲۲۲۹۵۰-۰	آنتی سرم تیپ C به شماره کاتالوگ ۲۲۳۰-۵۰-۷	آنتی سرم تیپ D به شماره کاتالوگ ۲۲۲۳۱۱	آنتی سرم تیپ Y به شماره کاتالوگ ۲۲۸۱۵۰-۹	آنتی سرم تیپ W-۱۳۵ به شماره کاتالوگ ۲۲۵۳۵۰-۹	آنتی سرم تیپ Z۱ به شماره کاتالوگ ۳۳۸۹۱۱
م غ ۱۳۸۲/۱۱/۱	-	-	+	-	-	-	-
م م ۱۰ ۱۳۸۲/۱۲/	-	-	+	-	-	-	-
الف الف ۱۳۸۳/۳/۱	-	-	+	-	-	-	-
م ت ۱۳۸۳/۳/۱	-	-	+	-	-	-	-
س ح خ ۱ ظ ۳ ظ ۱۳۸۳	-	+	-	-	-	-	-
ع ف ۱۳۸۴/۸/۱۲	-	-	+	-	-	-	-

بحث و نتیجه گیری

در این تحقیق ۶ مورد منتژیت منتگوکوکوسی در سربازان با محدوده سنی ۲۴ -۲۰ ساله در طی ۳ سال رخ داده است. هر چند این امر نشان دهنده کاهش چشم گیر بیماری منتژیت منتگوکوکوسی بعد از طرح واکسیناسیون می باشد زیرا که همه سربازان قبل از ورود به خدمت سربازی علیه منتژیت منتگوکوکی واکسینه می شوند. بنابراین، انتظار طبیعی آن است که این افراد به منتژیت منتگوکوکی به ویژه سروتیپ های واکسن مبتلا نشوند. از این رو، وجود منتژیت منتگوکوکوسی ناشی از سروتیپ C در این افراد سوالات زیادی را ایجاد کرده است، از جمله:

آیا تشخیص محقق یا آزمایشگاه غلط بوده است؟

آیا بیمار واکسن نزده است؟

آیا واکسن سالم بوده ولی به نحوه صحیح تزریق نشده است؟

آیا واکسن غیر فعال شده و فاقد قدرت مصونیت زایی است؟

آیا بیمار با سروتیپ غیر از واکسن بیمار شده است؟

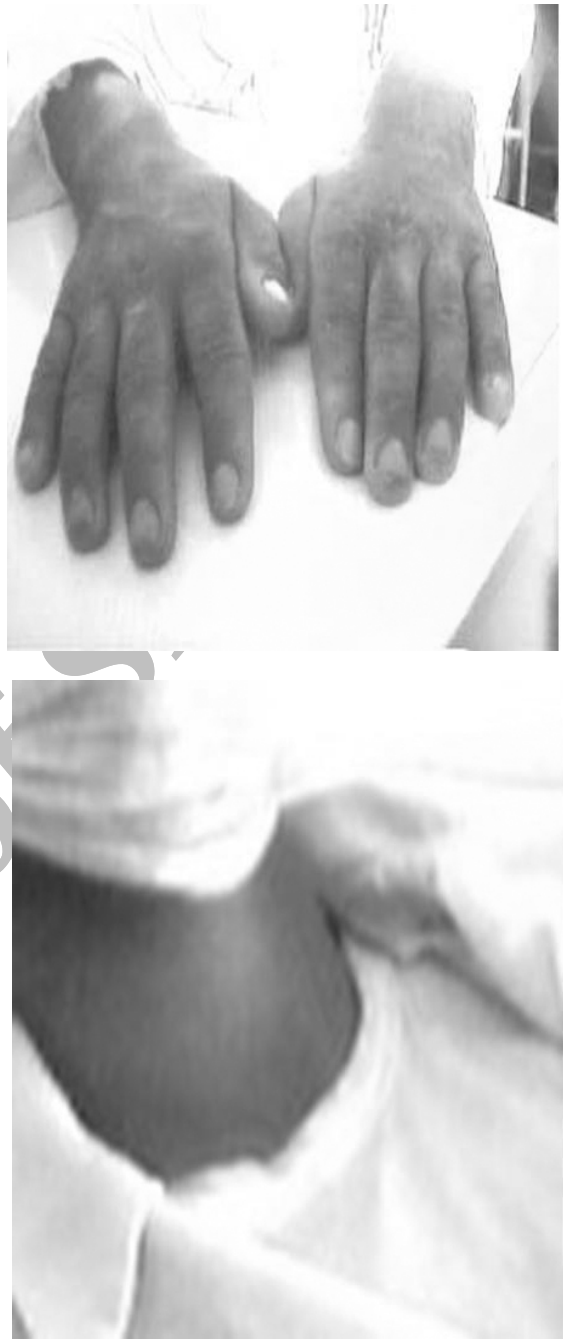
و سوالات بیشمار دیگری که در این رابطه می توان مطرح نمود.

بررسی علل منتژیت منتگوکوکوسی در این افراد نشان داد، در بدن ۴ نفر از بیماران مبتلا به منتژیت منتگوکوکوسی در این تحقیق که واکسن نیز دریافت کرده بودند، سطح CH۵۰ کمتر از حد طبیعی بود و یک نفر دیگر از این بیماران با وجود سطح CH۵۰ بیش از ۱۵۵ به منتژیت منتگوکوکوسی گرفتار بود. نتایج سروتایپینگ نشان داد باکتری عامل بیماری در این فرد به سروتیپ B تعلق دارد. این بیمار از پادگان عسلویه و از سطح بهداشتی بسیار پایین (شکل ۶) برخوردار بود. بر اساس اظهارات بیمار در دو هفته قبل مسواک نزده بود و استحمام نداشت.

از سال ها قبل نقش باکتری کشی کمپلمان در مهار عفونت های باکتریایی نشان داده شده است. افرادی که به عفونت های مهاجم منتگوکوکوسی مبتلا می شوند، دچار نقص کمپلمان در اجزای انتهایی هستند. علاوه براین، تحقیقات مختلف تولید IgM، IgG و IgA را در خلال عفونت های منتگوکوکوسی نشان داده اند. آلیسون و همکاران تولید IgG اختصاصی را علیه اپی توپ های اجزای مختلف دیواره سلولی از جمله پروتئین های متصل شونده به ترانسفرین (TBPA = Transferrin binding protein A) و نیز پروتئین های متصل شونده به لاکتوفرین (LbpA = Lactoferrin binding protein A) نشان دادند (۱۶، ۱۵). ولی اثر محافظت کنندگی آنها و یا عوامل موثر بر فعالیت آنها مشخص نیست. به علاوه معلوم نیست آیا وجود آنتی بادی بدون وجود کمپلمان محافظت کننده است یا نه.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۶- بیمار مبتلا به منتژیت منگوکوکوسی، به وضعیت بهداشتی بیمار توجه گردد، به ویژه زیر ناخن ها و گردن بیمار

چنانچه نتایج نشان داد، در این تحقیق باکتری های جدا شده را در حد جنس و گونه با استفاده از روش های استاندارد باکتریولوژیک از جمله رنگ آمیزی گرم و نیز با استفاده از آزمایش های بیوشیمیایی شناسایی شدند و پس از آن با آنتی سرم های سروتیپ ساخت شرکت دیفکو تعیین تیپ شدند.

در این تحقیق از آزمایش انتشار در ژل (ژل دیفیوژن) با استفاده از آنتی سرم های منووالانت اختصاصی برای تمام آنتی ژن های سروتیپ های نایسریا منتژیتیدیس تهیه شده توسط شرکت دیفکو نمایندگی ایتالیا استفاده گردید.

از آنجا که هدف این تحقیق، تعیین سروتیپ باکتری های منگوکوکوس جدا شده از سربازان مبتلا به منتژیت مراجعه کننده به ۵ بیمارستان نظامی در تهران و نیز تعیین مناسب بودن واکسن مصرفی بود ولی نظر به این که بیمار مبتلا به منتژیت منگوکوکوسی مراجعه کننده به این ۵ بیمارستان بسیار محدود بود، لذا، با هماهنگی هایی که در این زمینه با معاونین بهداشتی نیروهای ارتش و سپاه انجام گردید تمام سربازان در حال خدمت در پادگان های آموزشی سراسر کشور تحت پوشش این تحقیق قرار گرفتند. به این ترتیب در خلال ۳ سال انجام این مطالعه، تنها ۱۲ نفر سرباز به منتژیت مبتلا شدند که از ۶ نفر نایسریا منتژیتدیس جدا گردید. با وجود این که تمام بیماران مبتلا به منتژیت منگوکوکوسی واکسن دریافت کرده بودند. با این حال، ۸۰ درصد بیماران به تیپ C منگوکوکوس مبتلا بودند، در یکی از بیماران عود منتژیت منگوکوکوسی وجود داشت (۱۷)، نتایج حاصل از این تحقیق سوالات زیادی را برانگیخت، ناگزیر به منظور شناسایی علل، بررسی های مختلفی انجام شد. نهایتا، مجبور به اندازه گیری غلظت سرمی اجزای C_3، C_4 و CH_{50} شدیم که نتایج کاهش این اجزا را نشان داد، با آن که علل اصلی کاهش اجزای کمپلمان مشخص نیست و به نظر می رسد، نیاز به بررسی بیشتری وجود داشته باشد با این حال، صرف نظر از کمبود اجزای کمپلمان و این نکته که کارآیی واکسن حدود ۹۵ درصد می باشد به نظر می رسد، نوع واکسن مصرفی توانسته است بروز بیماری منتژیت منگوکوکوسی را در حد مطلوب کاهش دهد. با این حال، وجود ۱۳ سروتیپ نایسریا منتژیتیدیس همیشه خطر ابتلاء به این بیماری را امکان پذیر کرده است. لذا، بدون شناخت دقیق از وضعیت ناقلین سالم منگوکک در جامعه نمی توان به طور قطعی نتیجه گیری کرد. به این ترتیب لازم است تحقیق در خصوص تعیین سروتیپ های غالب در جمعیت های در معرض خطر انجام گردد.

این طرح در ایامی تدوین گردید که واکسن منتژیت در پادگان های آموزشی تزریق می شد و شیوع بیماری منتژیت منگوکوکوسی نیز در سطح نیروهای وظیفه قابل توجه بود. لذا، انتظار می رفت بتوان تعداد زیادی سویه باکتری را از نیروهای نظامی به ویژه سربازان جدا

Archive of SID

www.SID.ir

سازی نمود. اما، تغییر استراتژی کمیته بهداشت و طب پیشگیری ستاد کل نیروهای مسلح مبنی بر انجام واکسیناسیون قبل از ورود سربازان به پادگان ها، میزان بروز بیماری منژیت منگوکوکوسی در آنها، به طور قابل ملاحظه ای کاهش یافت. در نتیجه تعداد موارد منژیت منگوکوکوسی در سربازان برای سروتایپینگ نمودن با محدودیت مواجهه گردید. با این حال، با وجود این محدودیت به ۶ مورد منژیت منگوکوکوسی دست یافتیم که با توجه به تشدید کنترل واکسیناسیون سربازان قبل از ورود به خدمت، حاکی از کاهش شدید بیماری منژیت منگوکوکوسی در بین سربازان وظیفه می باشد. هر چند، ۵ سویه باکتری جدا شده با آنتی سرم سروتیپ C نایسریا منژیتیدیس واکنش داد و وجود این سروتیپ را تایید کرد ولی بررسی بیشتر نشان داد این افراد دارای نقص در اجزای C_3 ، C_4 و CH_{50} کمپلمان هستند. هر چند تحقیقات مشابه در برزیل نتایج مشابهی در بر داشته است(۱۸)، ولی بررسی علل کاهش کمپلمان در نیروهای وظیفه از اهمیت بسزایی برخوردار است. لذا، با توجه به اهمیت موضوع، پیشنهاد می گردد، سربازان در بدو ورود به خدمت نظام از نظر سیستم کمپلمان نیز تحت بررسی و کنترل قرار گیرند. البته باید در نظر داشت، در بهترین شرایط و نیز رعایت اصول بهداشتی و فنی نگهداری و تزریق واکسن بالاترین سطح محافظت کنندگی واکسن منژیت منگوکوکوسی ۹۵ درصد می باشد، لذا، ممکن است ۵ درصد افراد حتی با تزریق واکسن نسبت به بیماری حساس باشند. به علاوه، با وجود ۱۳ سروتیپ مختلف باکتری، تزریق واکسن ساخته شده از دو سروتیپ و نیز عدم وجود واکسن برای سروتیپ B منگوکوکوس وجود این تعداد بیمار مبتلا به منژیت منگوکوکوسی حاکی از مناسب بودن واکسن در حال حاضر می باشد. لذا، پیشنهاد می گردد برنامه واکسیناسیون سربازان به صورت یک ماه قبل از ورود به خدمت ادامه یابد و در خصوص پیشگیری از ۵ درصد افراد در معرض خطر از سایر روش های متداول پیشگیری استفاده شود.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاظر حاصل طرح تحقیقاتی است که با حمایت مالی مرکز تحقیقات بهداشت نظامی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... "عج" به انجام رسیده است. بدینوسیله از تمامی همکاران در دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... "عج" - پژوهشکده طب رزمی - مرکز تحقیقات بهداشت نظامی و پرسنل آزمایشگاه های بیمارستان بقیه ا... "عج"، بیمارستان ۵۰۲، بیمارستان ۵۰۵، بیمارستان شهید چمران و بیمارستان گلستان که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند، به ویژه از خانم زهرا صفیری، خانم احمدی و آقایان دکتر هاشم مدنی، دکتر مهدی خوبدل و دکتر سلطان پور صمیمانه تشکر می نماییم.

References

1.Stuart T, Walker ST. Sanders' text and review series microbiology. Philadelphia: W.B. Saunders Co. 1998, P:140 .

2. Stroffoni T, Rosmini F, Curiano CM. A one year survey of meningoccal disease in Italy. Eur J Epidemiolo. 1987; 3(4): 399- 403.

3.Groto I, Block C, Lerman Y. Wiener M, Ashkenazi S. Meningococcal disease in the occupaide palestinan defence, Epidemiology trends and new challemges. J Med Sci. 1995; 31(1): 54-8.

4.Stroffolini T. Vaccination campaign against meningococcal disease in army recruitsin Italy. Epidemiol Infect. 1990; 105(3): 579– 83.

5.DeMateo Ontanon S. Meningococcal disease in Spain, 1990- 1997. Change in its epidemiological patern. Rev Esp Salud Publica. 2000;74(4):387– 6.

6.Caugant DA, Hoiby EA, Rosenqvist E, Frohlm LO, Selander RK. Transmission of Neisseria meningitidis among asymtomatic military recruits and antibody analysis. Epidemiology Infect. 1992;109(2):241– 53.

7.Mimouni D, Gdalevich M, Mandel Y, Haim M. Ashkenazi I, Shermer J, Block C. Meningococcal polysaccharide vaccination of military recruits: Preliminary assessmnet of vaccine effect. Scand J Infect Dis. 1998; 30(3): 263- 4.

8.Bergman BP, Hayton JC, Green AD. Effectivness of the meningococcal vaccination programme for British armed forces recruits. Commun Dis Public Health. 2000; 3(4):298- 9.

9.Salisbury D. Interoduction of a Conjugate

Archive of SID
www.SID.ir

meningococcal type C vaccine programme in the UK. J Pediatr Child Health. 2001; 37(5): s34-s7.
10.Artenstein MS, Schneider H, Tingly MD. Meningococcal Infection. Prevalence of Serogroups causing disease in US Army personnel in 1964 – 1970. Bull Word Health Organ. 1971; 45(3): 275- 8.
11.Haburchak DR. Sporadic military meningococcal disease: A diversity of presentation. South Med J. 1981; 74(2): 153- 6.
12.Malkela PH, Kayhty H, Wecksrom P, Sivonen A, Renkonen OV. Effect of group A meningococcal vaccine in army recruits in Finland. Lancet 1975; 2(7941): 883- 6.
13.Shirzadi M, Pedram N, Guya M, Zahraie M. Information and data of communicable disseases in Iran. Ministry of health and medical education Undersecretary for health affairs center for diseases management. Tehran: Seda Publishing Center. P:123-211.
14.Frasch CE, Zollinger DW, Poolman TJ. Serotype antigens of Nesseria meningitidis and proposed scheme for Designation of serotypes. Rev Infect Dis. 1985; 7(4): 504 – 9.
15.Alison S Johnson AS, Andrew RG, Finna GM, Anderw JF, Ray B, Andrew R. Analysis of the human Ig isotype response to lactoferrin binding protein A from Neisseria meningitidis. Fems Immun and Med Microbiol. 1999; 25: 349 –54.
16.World Health Organixation. Control of epidemic meningococcal disease. WHO practical guidelines. 2ed ed. 1998 [online]. . Accessed online in 22 July 2005.
17.Ataee RA, Mehrabi Tavana A, Ghorbani GH, Mosavi SA, Karimi AA, Hajia M. Recurrent meningococcal meningitidis in an Iranian conscript: a brief report. Journal Clinical Microbiology Newsletter. 2005; 27(17): 136- 7.
18.Rubens Puricelli CB, Kupek E, Maria Helena Bittencourt Westrupp. Three decades of meningococcal disease in the state of Santa Catarina, Brazil. Braz J Infect Dis. 2004; 8(3): 241- 8.

Archive of SID

www.SID.ir

Serotyping of Neisseria meningitides in conscripts with meningitis admitted to five military hospital in Tehran between September 2004 and September 2006

Ataee RA; PhD[1], Mehrabi Tavana A; PhD[2], Gorbani G; MD[3], Hossaini Shokooh SJ; MD[4], Hajia M; PhD[2], Karami A; PhD[5]

Abstract

Background: Meningococcal meningitis is one of the most feared disorders with high rate morbidity and mortality. There is no exact information of meningococcal meningitis incidence in military personnel. Obligate vaccination of the military with meningococcal vaccine is a strategy with the potency to provide active protection of the conscripts before being dispatched to training centers. Although, sporadic cases of meningitis in conscripts occurred. The aim of this study was serotyping of the bacterium; Neisseria meningitides isolated from patients with meningitis which admited to five military Hospitals.

Materials and methods: In this cross- sectional study for determination of meningococcal meningitis serotypes in conscripts submit to five military hospitals the investigation was designed and carried out from September 2003 to September 2006. In this period, 12 cerebrospinal fluids of conscripts with clinical signs and symptoms of meningitis were collected, and the laboratory tests were done. In this study enriched Thayer Martin medium and standard bacteriological methods were used. The sample without bacterial cells or PMNs were centrifuged (10000 ×g for 5 min), The precipitate was cultured and direct smear was performed. Isolated bacterial strains was recognized by biochemical tests, and Neisseria meningitides strains were serotyped by specific antiserum.

Results: During the study, 12 cases of meningitis in conscripts were seen. Neisseria meningitides was isolated only from 6 patients. Serotyping analysis revealed that 5 strains belong to Serotype C and 1 strain was to serotype B. Neisseria sica was isolated from one patient. In three patients there was no bacteriological evidence. In two patients, consumption of antibiotic before lumbar puncture results to no bacterial growth, but direct smear showed gram negative diplococci. In one patient recurrent meningococcal infection was occurred. Complement components analysis revealed deficiency in C3, C4 and CH50 (the rate was below 80 mg per deciliter).

Conclusions: the results of this study showed that, Neisseria meningitides was isolated from six patients which are all conscripts. It is necessary to find the reasons that why vaccinated conscripts infected by Neisseria meningitides serotype C. Further analysis showed that, five patients had complement deficiency and further research is necessary. However, 6 Neisseria meningitides strains were isolated from meningococcal vaccinated conscripts around the country (Tehran, Shiraz, Yazd and Oslavieh) in the period of study. Based on the findings of this study, effectiveness of the vaccine was desirable and the disease had been controlled in this population group. Because of complements deficiency in patients with meningococcal meningitis, other preventing methods for eradication of disease are necessary.

Keywords: Conscript, Meningococcal meningitis, Neisseria meningitides, Serotyping

1- (*Corresponding author) Assistant professor, Baquiyatallah University of Medical Sciences, Faculty of Medicine, Military Medicine Institute, Military Health Research Center
2- Associate professor, Baquiyatallah University of Medical Sciences, Faculty of Medicine, Military Medicine Institute, Military Health Research Center
3- Assistant professor, Baquiyatallah University of Medical Sciences, Faculty of Medicine, Military Medicine Institute, Military Health Research Center
4- Assistant professor, Army University of Medical Sciences, Faculty of medicine, Department of Infectious Diseases, 505 Medical Cente
5- Assistant professor, Baquiyatallah University of Medical Sciences, Faculty of Medicine, Military Medicine Institute, Molecular Biology Research Center

Archive of SID

www.SID.ir