پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره هجدهم شماره ۶۴ خرداد و تیر سال ۱۳۸۷ (۲۸-۲۲)

بررسی فراوانی سکانس باکتریال در بیماران کاوازاکی بستری در مرکز طبی کودکان به روش Universal PCR طی سال های ۸۶-۸۵

محمدصادق رضائی(M.D.) *+ سید احمد سیادتی(M.D.)** قمرتاج خطائی(M.D.)*** ستاره ممیشی(M.D.)***
فرح صابونی(M.D.)**** بابک پوراکبری(M.Sc.)***** امید پژند(M.Sc.)******

چکیده

سابقه و هدف: کاوازاکی بیماری مهم و خطرناک با عوارض وخیم اما قابل پیشگیری می‌باشد، به شرطی که زود تشخیص داده شودودرمان گردد. علی‌رغم سال‌ها تلاش و تحقیق، هنوز عوامل ایجاد بیماری کاوازاکی ناشناخته باقی مانده است.

مواد و روش‌ها : کلیه بیماران مبتلا به سندرم کاوازاکی که در مرحله حاد در سال‌های ۱۳۸۶-۱۳۸۵ به مرکز طبی کودکان مراجعه نمودند و قبلا IVIG (گاما گلوبولین وریدی) نگرفتند در مطالعه قرار گرفتند سپس فرم پرسشنامه تکمیل گردید و۳- ۵ سی‌سی خونکامل درلوله حاوی EDTA از بیمارگرفته شد و پس از سانتریفوژ در منفی هفتاد درجه نگهداری شد. تعداد نمونه‌ها ۴۳ عدد بوده است که پس از اتمام دوره تحقیق جهت UPCR مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها : از ۴۳ بیمار مورد بررسی ۲۸ نفر مذکر و ۱۵ نفر مونث بودند. بیماران از ۶ ماهه تا ۹ ساله بودند. ۲۹ مورد کاوازاکی با علائم داشتند و ۱۴ مورد کاوازاکی بدون علامت داشتند. در ۲ بیمار یک پسر و یک دختر از ۴۳ بیمار مورد مطالعه با روش UPCR ترتیب ژنی باکتری ژن 16S rRNA یافت شد. کشت خون در همه بیماران منفی بود. لنفادنوپاتی در ۱۷ مورد ، راش در ۳۶ مورد، ۵ مورد اریتم اطراف محل تلقیح ب- ث- ژ، تغییر در اندام‌ها به صورت ادم و قرمزی کف دست و پا در ۱۶ مورد، پوسته‌ریزی در اندام‌های انتهایی در ۲۸ موردتغییرات قلبی در ۸ مورد و ترومبوسیتوز در ۳۶ بیمار وجود داشت، رسوب سرم بین ۳۰ تا ۱۲۵ بوده است.

استنتاج : درمطالعه ما فقط دو بیمار مبتلا به کاوازاکی حاد که قبلا IVIG نگرفته بودند دارای ترتیب ژنی باکتریال 16S rDNA در لکوسیت‌های خود بودند. همانند مطالعات مشابه می‌توان علت باکتریال را در به وجود آوردن ویا تریگر کردن بیمار مستعد به کاوازاکی، دخیل دانست. در این مطالعه ارتباطی بین علامت دار یا بدون علامت بودن کاوازاکی، جنسیت، فصل، سن، بیماری کرونری ویا سایر علائم و نشانه‌ها و وجود ترتیب ژنی باکتری یافت نشد.

واژه‌های کلیدی: کاوازاکی، Universal PCR ، ترتیب ژنی باکتریایی

+ **مولف مسئول : دکتر محمد صادق رضائی- تهران،انتهای بلوارکشاورز، خیابان قریب، بیمارستان مرکز طبی کودکان، بخش عفونی، مرکز تحقیقات عفونی**
E-mail: Drmsrezaii@yahoo.com

* دستیار فوق تخصص عفونی اطفال، دانشگاه علوم پزشکی تهران
** فوق تخصص عفونی اطفال، استاد دانشگاه علوم پزشکی تهران
*** فوق تخصص عفونی اطفال، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی تهران
**** فوق تخصص عفونی اطفال
***** دانشجوی دکترای میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
****** کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ دریافت : ۸۷/۲/۳۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۷/۳/۷ تاریخ تصویب: ۸۷/۳/۲۲

www.SID.ir
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-21]

مقدمه

کاوازاکی بیماری مهم و خطرناک با عوارض وخیم اما قابل پیشگیری می‌باشد. به شرطی که زود تشخیص داده شود و درمان گردد. علی‌رغم سال‌ها تلاش و تحقیق، هنوز عوامل اتیولوژیک بیماری کاوازاکی ناشناخته باقی مانده است. محققین به دلایل زیر عوامل عفونی را در عامل آن دخیل دانستند: تب، اگزانتم، کنژکتیویت، آدنوپاتی، مشاهده بیماری در زمستان و بهار و همچنین خود محدود شونده بودن بیماری(۱تا۳)، از طرفی نادر بودن بیماری در شیر خواران کمتر از سه ماه، نشانه انتقال آنتی بادی از مادر به شیرخوار می‌باشد و همچنین فرم‌های بالینی کاوازاکی با الگوهایی از عفونت ریکتزیال و باکتریال همراهی دارد مثل سندرم شوک توکسیک، تب روماتیسمی حاد، تب یونجه، سندرم پوست متفلس استافیلوکوکی،تب کوه های راکی و لپتوسپیروز. اما تا به حال ارتباط ثابت شده اتیولوژیک با این عوامل در پرده ای از ابهام می‌باشد(۳تا۶) با این‌که کشت خون، روش رایجی برای شناسائی باکتری‌ها می‌باشد اما درمواردی‌که باکتری‌های دیر رشد یا میکرب‌های غیر قابل کشت مثل بارتوبلا هنسله و ارلیشیا وجود دارند و همچنین بیمارانی که قبل از مراجعه آنتی‌بیوتیک مصرف کردند کشت خون روش مناسبی برای شناسایی باکتری‌ها نیست. PCR روش جدیدی است که به وسیله آن می‌توان وجود یک ترتیب ژنی DNA یا RNA را در یک نمونه حاوی 10^5 سلول پیدا کرد. اکنون PCR اختصاصی برای فهرست رو به رشدی از میکروب در دسترس است. این روش‌ها از حساسیت بسیار بالایی نسبت به روش‌های سنتی رایج برخوردارند و در زمانی حدود ۴ تا ۹ ساعت با مقادیر اندک ارگانیسم در نمونه میکروب را شناسایی می‌کنند. از آن‌جایی که تکثیر به وسیله PCR به قابلیت حیات یا رشد باکتری وابسته نیست، این تکنیک برای شناسایی باکتری در خون حتی در حضور مهار کننده‌های رشد باکتری از جمله آنتی بیوتیک‌ها سودمند است. از طرفی با توجه به متهم بودن باکتری‌ها در اتیولوژی کاوازاکی باید روشی را برای مطالعه انتخاب کرد که بتواند وجود تمام باکتری‌ها را در لکوسیت‌هایی که آنها را بلعیدند و مدت‌ها ممکن است با خود به همراه داشته باشند، شناسایی کند. در سال‌های اخیر روش جالب UPCR[1] بر اساس دسته‌بندی فیلوژنیک باکتری‌ها که برپایه ترتیب ژنی (rDNA) می‌باشد، بنا نهاده شد. در این روش از پرایمرهایی استفاده می کنند که تعداد ۹۹۷ جفت باز از ژن 16S rRNA را آمپلیفیه می کند که تقریباً همه باکتری‌ها آن سکانس ژن (rRNA) را دارند و آن، ژن‌های 16S rDNA می‌باشد که با تکثیر مستقیم ژن‌های باکتریال نمونه‌های بالینی وجود این ترتیب‌های ژنی مشترک در انواع گوناگون باکتری‌ها نشان داده می‌شود(۷تا۹). در سال ۱۹۹۹ شیباتا و همکاران برای اولین بار از روش UPCR برای شناسایی اتیولوژی باکتریال در سندرم کاوازاکی استفاده کردند و در بررسی ۲۰ بیمار مبتلا به کاوازاکی با روش PCR از لنفوسیت‌های خون محیطی این سکانس را در سه بیمار یافتند(۷). اما این‌که بتوان گفت که باکتری‌ها در علت باکتریایی کاوازاکی سهیم هستند، نیاز به مطالعه بیشتر دارد. با توجه به آنچه بیان شد و به خاطر نیاز به تحقیق بیشتر برای یافتن عوامل اتیولوژیک این بیماری و از طرفی با توجه به موارد فراوان مراجعه این بیماران به بیمارستان مرکز طبی بر آن شدیم تا از روش UPCR ترتیب ژنی باکتری‌ها را در لکوسیت‌های خون محیطی این بیماران سنجش نماییم. از این دست مطالعه در بیماران کاوازاکی تا به حال به صورت گسترده در دنیا

1. Universal Polymerase Chain Reaction

Archive of SID
www.SID.ir
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-21]

انجام نشد. در کشور ایران نیز با آخرین اطلاعات ما چنین مطالعه ای صورت نگرفته است و از این لحاظ منحصر به فرد است.

مواد و روش ها

کلیه بیماران مبتلا به سندرم کاوازاکی که در مرحله حاد در سال‌های ۱۳۸۶-۱۳۸۵ به مرکز طبی کودکان مراجعه نمودند و قبلا IVIG[1] نگرفتند پس از موافقت خانواده‌ها در مطالعه قرار گرفتند. این بیماران توسط دستیار فوق تخصصی عفونی و فوق تخصص عفونی معاینه شدند و تشخیص کاوازاکی مسجل گردید. کاوازاکی تیپیک به بیمارانی اطلاق شد که تب به مدت حداقل پنج روز بهمراه وجود حداقل ۴ نشانه از ۵ نشانهٔ زیر: قرمزی دو طرفهٔ ملتحمه بولبر (عموماً غیر چرکی)، تغییرات مخاط اورفارنکس شامل قرمزی حلق، لب‌های قرمز و ترک خورده و زبان توت فرنگی، تغییرات اندام محیطی از قبیل ادم و یا اریتم دست‌ها و پاها در مرحله‌ی حاد یا پوسته‌ریزی در مرحله‌ی تحت حاد، راش طور اولیه بر روی تنه، (پلی مورف ولی غیر وزیکولر)، آدنوپاتی گردنی بیش از ۱/۵ سانتی‌متر معمولاً لنفادنوپاتی یک طرفه را داشتند. کاوازاکی بدون علامت به بیمارانی اطلاق شد که تب کمتر از ۵ روز و حداقل دو علامت کلاسیک فوق را دارا بودند. سپس فرم پرسشنامه که حاوی متغیرهای مطالعه بود پر گردید و۳- ۵ سی سی خون کامل در لوله حاوی EDTA[2] از بیمار گرفته شد و پس از سانتریفوژ در منفی هفتاد درجه نگهداری شد. تعداد نمونه‌ها ۴۳ عدد بوده است که پس از اتمام دوره تحقیق جهت UPCR مورد استفاده قرار گرفت. روش انجام کار به صورت زیر بوده است: ابتدا گلبول سفید ازنمونه‌ها استخراج گردید، سپس گلبول‌های سفید لیز و استخراج DNA از لکوسیت‌ها انجام شد. به دلیل این‌که مایع حاوی DNA دارای مواد شیمیایی و یون‌های موجود در محلول لیزکننده می‌باشد، DNA با روش فنل- کلروفرم ایزوآمیل الکل DNA تخلیص گردید. در این روش، فنل به صورت اشباع شده (equilibrate) استفاده گردید. میزان DNA استخراج شده از نمونه‌های PBLs جمع‌آوری شده، توسط دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۶۰ nm خوانده شد. به طور میانگین مقدار DNA ۰/۷μg/μl از تعداد ۲×۱۰^{۶} - $۱۰^{۵}$ PBLs جدا گردید. درجه خلوص DNA حاصل(۲۶۰/۲۸nm) برابر ۱/۷۰ به دست آمد. از پرایمرهای U1:5′ -CcAGCAGCCGCGTAATACG-3′
U2:5′-ATCGG(C/T)TACCTTGTTACGATTC-3′
برای شناسایی کلیه باکتری‌ها استفاده شد. این پرایمرها تعداد ۹۹۷ جفت باز از ژن 16S rRNA را آمپلیفیه می‌کند. پس از استخراج DNA از سوش‌های استاندارد UPCR با شرایط زیر انجام گرفت. با آب مقطر حجم واکنش به ۵۰ میکرو لیتر افزایش یافت. با ترموسیکلر اپندرف واکنش تکثیر به صورت زیر انجام شد: دناتوراسیون در ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، آنیلینگ در ۵۵ درجه به مدت ۴۵ ثانیه و اکستانسیون در ۷۲ درجه به مدت ۳۰ ثانیه انجام گرفت. این مراحل ۳۰ بار تکرار شد. قبل از این مراحل پره دناتوراسیون به مدت ۵ دقیقه و بعد از مراحل فوق نیز Post extension به مدت ۵ دقیقه انجام شد. محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید نوارهای DNA توسط دستگاه UV Transilluminator قابل مشاهده شدند و از آنها عکس گرفته شد. ستون‌های M شاخص وزنی DNA(100bp)، ستون ۱ محصول PCR سویه استاندارد، ستون ۲ محصول PCR و ستون ۳ محصول. پس از راه‌اندازی UPCR آزمایش بر روی ۴۳ نمونه، DNA

1. Intravenous Immune Globulin (Immunoglobulin)
2. Eithlenediaminetetraacetic Acid

Archive of SID
www.SID.ir
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-21]

استخراج شده از لکوسیت خون‌های جمع آوری شده از بیماران شروع گردید. همزمان از آب مقطر استریل به عنوان کنترل منفی و از DNA استخراج شده به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. محصول حاصل از آزمایش PCR بر روی ژل آگارز برده شد و در صورت مشاهده باند مورد نظر با توجه به حرکت الکتروفورتیک و وزن آن در کنار شاخص وزنی DNA نمونه از نظر باکتری‌های فوق مثبت در نظر گرفته شد. کنترل منفی و مثبت همراه نمونه‌های بیماران همواره باید به ترتیب منفی و مثبت می‌شدند در غیر این صورت آزمایش‌ها تکرار می‌گردید. سایر اطلاعات از پرسشنامه استخراج گردید و متغیرهای مورد نظر جمع‌آوری و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته ها

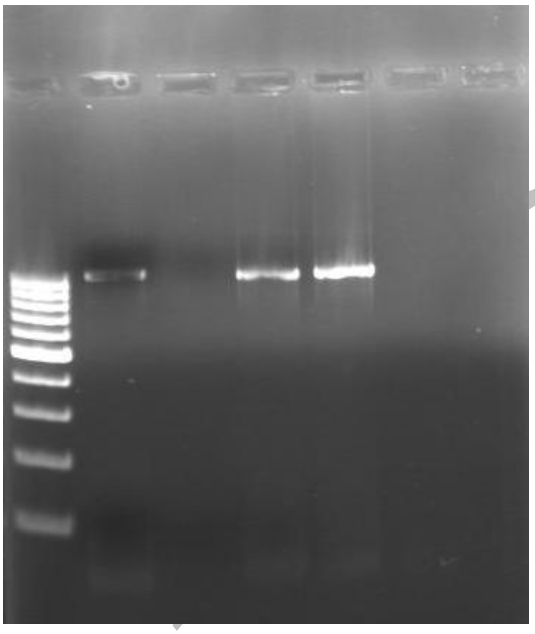
در کل از ۴۳ بیمار مورد بررسی نتایج زیر بر اساس پرسشنامه به دست آمد(نمودار شماره ۱): ۲۸ نفر مذکر و ۱۵ نفر مونث بودند. بیماران از ۶ ماهه تا ۹ ساله بودند.۳۳ بیمار بین یک تا ۳/۵ سال بودند. ۲۹ مورد کاوازاکی تیپیک با علائم کامل داشتند و۱۴ مورد کاوازاکی بدون علامت داشتند. در ۲ بیمار(۴/۵۶ درصد) از۴۳ بیمار مورد مطالعه با روش UPCR سکانس باکتریال ژن 16S rRNA یافت شد(شکل شماره ۱). مقایسه علائم بالینی و پاراکلینیکی درکل بیماران و بیماران +PCR در (جداول شماره۱و۲) و (نمودار شماره ۱) آورده شده است.

جدول شماره ۱ : مقایسه علائم بالینی اصلی سندرم کاوازاکی درکل بیماران و بیماران+ PCR

علائم بالینی	کل بیماران (۴۳بیمار)	+PCR (۲ مورد)
تب	(٪۱۰۰)۴۳	(٪۴/۶۵)۲
کنژکتیویت	(٪۶۲/۷)۲۷	(٪۴/۶۵)۲
ضایعات دهانی	(٪۷۶/۷۴)۳۳	(٪۴/۶۵)۲
راش	(٪۸۳/۷۲)۳۶	(٪۴/۶۵)۲
لنفادنوپاتی	(٪۳۹/۵۳)۱۷	(٪۲/۳۲)۱
تغییرات اندام محیطی	(٪۳۷/۲۰)۱۶	(٪۲/۳۲)۱

جدول شماره ۲ : مقایسه علائم بالینی غیر اصلی و پاراکلینیکی سندرم کاوازاکی درکل بیماران و بیماران+ PCR

علائم بالینی و پاراکلینیکی	کل بیماران (۴۳بیمار)	(+PCR) ۲ بیمار
آنوریسم کرونر	(٪۱۳/۹۵)۶	(٪۰)۰
هیدروپس کیسه صفرا	(٪۱۸/۶۰)۸	(٪۰)۰
سدیمان بالای ۳۰	(٪۱۰۰)۴۳	(٪۴/۶۵)۲
کامل ادرار فعال	(٪۳۰/۲۳)۱۳	(٪۲/۳۲)۱
پلاکت > ۴۰۰۰۰۰	(۹۷/۶۷)۴۲	(٪۴/۶۵)۲
لکوسیت> ۱۵۰۰۰	(٪۴۸/۸۳)۲۱	(٪۲/۳۲)۰
هموگلوبین< ۱۰	(٪۵۱/۱۶)۲۲	(٪۴/۶۵)۲
پوسته ریزی اندامها	(٪۶۵/۱۱)۲۸	(٪۴/۶۵)۲
اریتم اطراف محل BCG	(٪۱۱/۶۲)۵	(٪۰)۰
مصرف آنتی بیوتیک قبل از مراجعه	(٪۳۷/۲۰)۱۶	(٪۲/۳۲)۱
کشت خون مثبت	(٪۰)۰	(٪۰)۰
اوئیت	(٪۹/۳۰)۴	(٪۲/۳۲)۱
آرتریت	(٪۶/۹۷)۳	(٪۲/۳۲)۱
سندرم تیپیک کاوازاکی	(٪۶۷/۴۴)۲۹	(٪۴/۶۵)۲



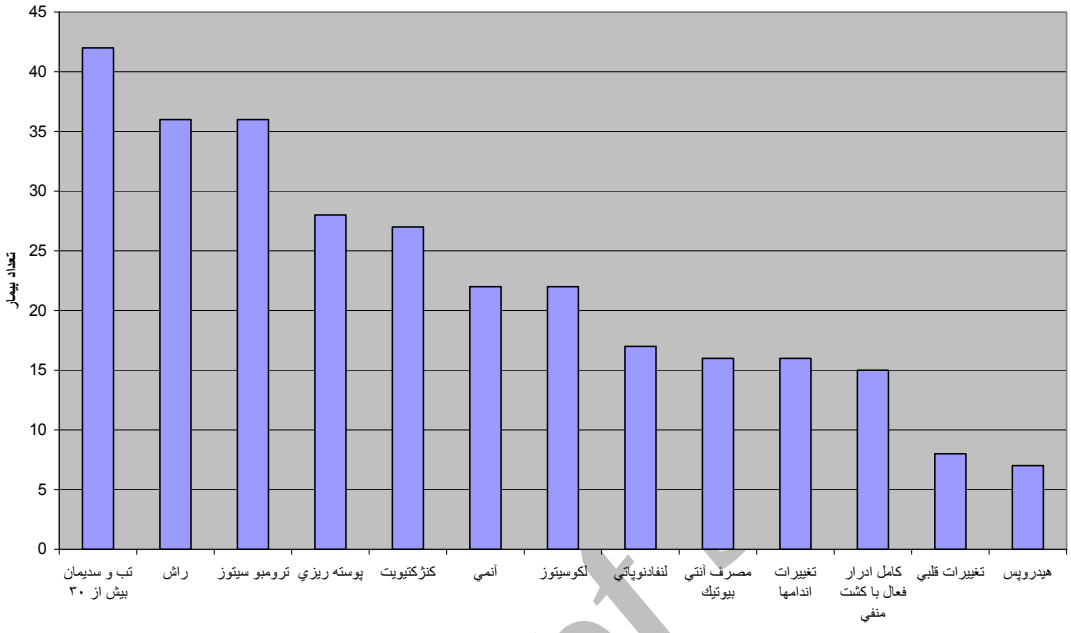
شکل شماره ۱ : باندهای سکانس باکتریال با روش UPCR در دو بیمار با سندرم کاوازاکی

دو بیمار وضع اجتماعی اقتصادی بالا داشتند. ۵ بیمار از نظر اقتصادی پایین بودند. ۳۵ بیمار از وضع اجتماعی و اقتصادی متوسط برخوردار بودند.۲۰ بیمار در زمستان، ۱۳ مورد در بهار، ۶ بیمار در پائیز و ۴ مورد در تابستان مراجعه نمودند.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-21]

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار شماره ۱ : فراوانی علائم و نشانه ها در جمعیت مورد مطالعه

ترومبوسیتوز در ۳۶ بیمار وجود داشت که بین ۱۳۱۹۰۰۰ و ۱۸۱۰۰۰ بود.متوسط میزان پلاکت ۵۲۷۰۰۰ بود. سدیمان سرم بین ۳۰ تا ۱۲۵ بوده است. ۲۰ مورد ۱۰۰ و بالای صد بوده است. متوسط آن ۸۴/۵ بود.

بحث

پزشکان مختلف در سراسر دنیا با مطالعات مختلف عوامل باکتریال استرپتوکوک، استافیلوکوک اورئوس و پروپیونی باکتریوم و کلامیدیا را در علت کاوازاکی دخیل دانستند. اما همه آنها لازم دانستند برای تأیید شدن نیاز به مطالعه بیشتر دارد(۹،۷،۴). در سال ۱۹۹۳ لنونگ و همکارانش ازبیماران کاوازاکی که همزمان سندرم شوک توکسیک داشتند، توکسین نوع ۱ را جدا کردند(۱۰). در سال‌های اخیر روش جالب UPCR بر اساس دسته بندی فیلوژنیک باکتری‌ها که بر پایه ترتیب‌های ژنی(rDNA) می‌باشد، بنا نهاده شد. در این روش از پرایمرهایی استفاده می‌کنند که تعداد ۹۹۷ جفت باز از ژن 16S rRNA را آمپلیفیه می‌کند که تقریباً همه باکتری‌ها آن سکانس ژن (rRNA) را دارند و آن ژن‌های 16S rDNA می‌باشد که با آمپلیفیکاسیون مستقیم ژن‌های باکتریال نمونه‌های بالینی وجود این سکانس‌های مشترک در انواع گوناگون باکتری‌ها نشان داده می‌شود(۷تا۹). در سال ۱۹۹۹ شیباتا و همکاران برای اولین بار از روش UPCR برای شناسایی علت باکتریال در سندرم کاوازاکی استفاده کردند و در بررسی ۲۰ بیمار مبتلا به کاوازاکی با روش PCR از لنفوسیت‌های خون محیطی این سکانس را در سه بیمار یافتند(۷). در مطالعه ما بر پایه این حقیقت که باکتری‌هایی که به عنوان علت سندرم کاوازاکی مطرح هستند را بدون توجه به مصرف آنتی بیوتیک قبلی ویا کند رشد بودن باکتری ظرف ۴ تا ۹ ساعت در لکوسیت‌های خون

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-21]

www.SID.ir

محیطی، با این روش می‌توان یافت، سکانس 16S rDNA را در بیماران مورد مطالعه مورد بررسی قرار دادیم. درمطالعه ما در مرحله حاد کاوازاکی از۴۳ بیمای‌که IVIG نگرفته بودند و به بیمارستان مرکز طبی کودکان تهران مراجعه نموده بودند فقط دو بیمار دارای سکانس باکتریال 16S rDNA در لکوسیت‌های خود بودند.که با نمونه مثبت و منفی هنگام انجام آزمایش موارد مثبت و منفی کاذب مطالعه حذف شد و این در حالی بود که کشت خون تمام بیماران منفی بود. البته لازم است درمطالعات دیگرسکانس اختصاصی باکتریال با روش Nested PCR یا Real Time PCR نوع میکرب هم شناسایی گردد. با توجه به اینکه فقط در دو نمونه سکانس ژنی 16S rDNA شناسایی شد در حال حاضر نمی‌توان آن را با اطمینان در اتیولوژی کاوازاکی دخیل دانست هر چند نمی‌توان آن را هم کنار گذاشت و توصیه به مطالعات بیشتر می‌کنیم تا بتوان راجع به این موضوع قضاوت کرد. در حال حاضر توصیه ما این است که روش UPCR بخاطر هزینه نسبتاً گران و این‌که در برابر آلودگی میکربی کاملاً آسیب پذیر است به عنوان روش تشخیصی رایج برای شناسایی علت باکتریال در بیماران کاوازاکی استفاده نگردد.۱۶ بیمار قبل از مراجعه مصرف آنتی‌بیوتیک داشتند که یک مورد از آنها PCR مثبت بود. تب، راش، ضایعات دهانی وکنژکتیویت در هر دو بیمار PCR مثبت وجود داشت ولی تغییرات اندام‌ها و لنفادنوپاتی فقط در یکی از این دو بیمار وجود داشت. در این مطالعه ۲۹ بیمار سندرم تیپیک داشتند که هر دو مورد PCR مثبت سندرم تیپیک داشتند. هیدروپس کیسه صفرا و آنوریسم کرونر در موارد مثبت مطالعه دیده نشد. اوئیت در۴ مورد دیده شد که یک مورد آن PCR مثبت بود.آرتریت در۳ مورد دیده شد که یک مورد آن PCR مثبت بود.

به طور کلی می‌توان این‌طور نتیجه‌گیری نمود که با توجه به مثبت شدن دو نمونه از ۴۳ بیمار مورد مطالعه همانند مطالعات مشابه هنوز نمی‌توان به طور قطع باکتری‌ها رابه عنوان علت بیماری کنار گذاشت. توصیه ما این است که روش UPCR به خاطر هزینه نسبتاً گران و این‌که در برابر آلودگی میکروبی کاملا آسیب پذیر است به عنوان روش تشخیصی رایج برای شناسایی علت باکتریال در بیماران کاوازاکی استفاده نگردد. ارتباط معنی‌داری بین باعلامت و بدون علامت بودن‌کاوازاکی، جنسیت، فصل، سن، بیماری کرونری و یا سایر علائم و نشانه‌ها و وجود سکانس باکتریال یافت نشد. در واقع این سوال همچنان مطرح است که شیوع حقیقی سکانس 16S rDNA در ترتیب ژنی باکتری چه میزان است؟ البته لازم است در این زمینه محققین با تعداد موارد بیشتر و در مراکز بیمارستانی متعدد مطالعات بیشتری نمایند.

سپاسگزاری

از دانشگاه علوم پزشکی تهران بخاطر تامین هزینه طرح، و خانم حسینی به خاطر گرفتن نمونه از بیماران و خانواده آنها که با انجام این آزمایش موافقت نمودند صمیمانه سپاسگزاریم.

References

1. Kawasaki T, Kosaki F, Okawa S, et al. A new infantile acute febrile mucocutaneous lymph node syndrome prevailing in Japan. ***Pediatrics*** 1974; 54: 271-281.

2. Burns JC, Kushner HI, Bastian JF, Shike H,Shimizu C,MatsubaraT, et al. Kawasaki disease: a brief history. ***Pediatrics*** 2000; 106: E27.

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-21]

www.SID.ir

3. David Burgner,Anthony Harnden.Kawasaki disease: What is the epidemiology telling us about the etiology?. ***Int J Infect Dis*** 2005; 9: 185-194.
4. Newburger JW, Fulton DR. Kawasaki disease. ***Curr Opin Pediatr*** 2004; 16: 508-514.
5. Chih-Lu W, Yu-Tsun W, Chieh-An L, Ho-Chang K, Kuender D. Kawasaki Disease Infection, Immunity and Genetics. ***Pediatr Infec Dis J*** 2005; 24(11): 998-1004.
6. Zucol F, Ammann R, Berger, Aebi C, Altwegg M, Niggli F, Nadal D. Real-Time quantitive Broad-Range PCR Assay for Detection of the 16S rRNA Gene Followed by Sequencing for Species Identification. ***J Clin Microbiol*** 2006; 44(8): 2750-2759.
7. Motohiro S, Takayuki E, Mitsuhiro H, et al. Isolation of Kawasaki disease-associated bacterial sequence from peripheral blood leukocytes. ***Pediatr Int*** 1999; 41: 467-472.
8. Relman DA, Falkow S. A molecular perspective of microbial pathogenetic. In: Mandell GL,Bennet JE,editors. ***Principles and practice of infectious diseases.*** 5th ed. Philadelphia: Churchill living stone, 2000. P: 10.
9. Melish ME, Marchette MJ, Kaplan JC, Kihara S, Ching D, Ho DD. Absence of significant RNA-dependent DNA polymerase activity in lymphocytes from patients with Kawasaki syndrome. ***Nature*** 1989; 337: 288-290.
10. Rowley AH, Wolinsky SM, Relman DA et al. Search for highly conserved viral and bacterial nucleic acid sequences corresponding to an etiologic agent of Kawasaki disease. ***Pediatr Res*** 1994; 36: 567-571.

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-21]

www.SID.ir