پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره هجدهم شماره ۶۸ بهمن و اسفند سال ۱۳۸۷ (۵۷-۴۸)

ارزیابی مقاومت نایسریا مننجایتیدیس به عوامل ایمنی طبیعی در شرایط آزمایشگاه: مقایسه روش های سرمی با روش خون کامل

زهرا اسلامی نژاد[1] نیکو نیک نفس[2] نصرت ا.. سعید عادلی[3]

چکیده

سابقه و هدف : سوابق مطالعاتی نشان می‌دهند مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها ممکن است با پایداری آن‌ها دربرابر ایمنی طبیعی مرتبط باشد. درمطالعهٔ قبلی ما، حساسیت آنتی بیوتیکی منگوکوک‌های جدا شده از نمونهٔ بیماران کمتر از ایزوله‌های مربوط به حاملینِ سالم بود. به منظور ارزیابی رابطهٔ فوق الذکر در نایسریا منجایتیدیس(منگوکوک)، در یک مطالعهٔ مورد- شاهدی مقاومت این باکتری در برابر عوامل ایمنی طبیعی در شرایط برون- تنی بررسی شد.

مواد و روش ها : مجموعاً ۱۸ ایزولهٔ منگوکوک، ۶ ایزوله مقاوم به آنتی بیوتیک در گروه مورد و ۱۲ ایزولهٔمربوط به ترشحات حلقِ حاملین سالم در گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. پایداری دو گروه در رقت‌های سریالیِ سرم های انتخابی و غیر انتخابی با آزمایش های SIC (غلظتِ سرمی مهار کننده) و SBC (غلظتِ سرمی کُشنده)، SBA (کُشندگی سرم رقیق نشده) انجام شد. در آزمایش WBA، تداوم گروه مورد و شاهد در فواصل زمانیِ مشخص در خونِ کاملِ تازه آزمایش شد. به منظور مقایسه، از سویهٔ استاندارد منگوکوک و دو باکتری دیگر (استافیلوکوک و اشریشیا کُلای) در مقاطع مختلف استفاده گردید.

یافته ها : مقاومت هر دو گروه در برابر سرم‌های انتخابی در آزمایش‌های SIC وSBC یکسان بود. میانگین عیار به دست آمده معادل یک دوم بود. رُشد گروه مورد در رقت ۱/۵۱۲ و گروه شاهد در رقت ۱/۱۰۲۴ در برابر سرم‌های غیر انتخابی متوقف شد. در WBA ، کاهش جمعیت گروه مورد در مقایسه با گروه شاهد سیر کُندتری داشت.

استنتاج : نتایج به دست آمده از بررسی‌های مربوط به رابطهٔ مقاومت آنتی‌بیوتیکی و مقاومت در برابر ایمنی طبیعی در باکتری‌ها، یکسان نبوده است. از میان آزمایش‌های مورد استفاده در این پژوهش، WBA توانست رابطه فوق را بهتر به نمایش بگذارد.

واژهای کلیدی : نایسریا منجایتیدیس ، منگوکوک، SIC ، SBC ، SBA ، WBA

مقدمه

درسراسر دنیا، منتژیت و سپتی سمی‌های منگوکوکی همچنان از موارد مهم بالینی محسوب می‌شوند. علی‌رغم بهبود مراقبت‌های ویژه و فراهم بودن آنتی‌بیوتیک‌های موثر، ۴۰-۲۰ درصد بیماران پس از ابتلا به شوک سمی

مولف مسئول: دکتر زهرا اسلامی نژاد- کرمان- انتهای بلوار ۲۲ بهمن، دانشکده پزشکی افضلی پور گروه میکروب شناسی E-mail:eslamie_33333@yahoo.com

۱. دکترای میکروبیولوژی، استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۲. پزشک متخصص اطفال دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۳. کارشناس میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان

تاریخ دریافت : ۸۷/۸/۱۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۷/۹/۱۰ تاریخ تصویب : ۸۷/۱۱/۲۶

www.SID.ir

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

متعاقب منتژیت، فوت می‌کنند(۱،۲). انسان تنها میزبان طبیعی نایسریا منتجایتیدیس(منتگوکوک) است. این باکتری قسمتی ازجمعیت میکروبی بخش فوقانی دستگاه تنفس را تشکیل می‌دهد و ممکن است به ندرت به خون و منتژ حمله نماید(۶-۳). منتگوکوک‌هایی که به خون راه می‌یابند به‌وسیلهٔ آنتی‌بادی اختصاصی (وتاحدودی غیراختصاصی) همراه با پروتئین‌های سیستم کمپلمان اُپسونیزه، منهدم و یا فاگوسیته می‌شوند(۶-۲). لذا فقدان آنتی‌بادی اختصاصی به ویژه در افراد در معرض خطر، زمینه را برای ابتلا به بیماری‌های مهلک منتگوکوکی فراهم می‌سازد. واکسن‌های تهیه شده از آنتی ژن های کپسولیِ سروگروه‌هایA وC ، اثرات محافظت کنندهٔ قابل قبولی در زمینهٔ پیشگیری از منتژیت و منتگوکُوکسمی نشان داده‌اند(۲). اما پلی‌ساکاریدکپسولیِ گروهB ، به دلیل شباهت آنتی‌ژنی با چسباننده‌های(adhesins) سلول‌های عصبی- از ایمیونوژنیسیتهٔ کافی برخوردارنیست. به این دلیل بسیاری از واکسن‌های موجود فاقد آنتی ژن کپسولی B می‌باشند(۷،۱). واکسن‌های تهیه شده از پروتئین‌های خارج سلولی نیز که در معدودی از کشورها استفاده می‌شوند، به میزان زیادی ویژگیِ گونه نشان می‌دهند(۷،۲). از این رو موضوع ایمنی غیر اختصاصی (ایمنی طبیعی) در برابر منتژیت منتگوکوکیِ گروه B همچنان از مباحث مورد علاقهٔ محققین می‌باشد(۲).

از سوی دیگر تعدادی از بررسی‌ها نشان داده است سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیکِ باکتری‌هایی مانند اشریشیا کلای، استافیلوکوک، کلبسیلا و سودوموناس، به عوامل ایمنی طبیعی، مقاوم ترند(۱۱-۸).

در بررسی گذشتهٔ ما، تمام منتگوکوک‌هایی که از نمونهٔ خون یا مایع نخاع بیماران جدا شده بودند، متعلق به گروه B و اغلب دارای کُلنی‌های خشن بودند(۱۲). حساسیت آن‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های ضد منتگوکوکی (پنی سیلین، ریفامپیسین و سیپروفلوکساسین) نیز کمتر از ایزوله‌های به دست آمده از حاملینِ سالم بود(۱۲).

هدف از انجام مطالعهٔ حاضر، بررسی رابطهٔ مقاومت آنتی‌بیوتیکیِ منتگوکوک‌های مهاجم با مقاومت آن‌ها به عوامل ایمنی طبیعی بود. به این منظور در یک مطالعهٔ مورد- شاهدی، حساسیت و مقاومت ایزوله‌های به دست آمده از نمونهٔ بیماران و ایزوله‌های مربوط به حاملین سالم در برابر سرم و خون کامل انسانی و در شرایط برون- تنی آزمایش و مقایسه شد.

مواد و روش ها

ایزوله‌های باکتریایی:

شش ایزولهٔ مهاجم منتگوکوکیِ گروهB، که در بررسی گذشتهٔ ما از کشت مایع نخاع یا خون بیماران جدا شده بودند، گروه مورد و ۱۲ ایزوله که از ترشحات حلق حاملین سالم جدا شده بودند، گروه شاهد را تشکیل می‌دادند. ایزوله‌های مزبور تا قبل از آزمایش در محیط نگاه دارندهٔ TSB + گلیسرول ۱۵ درصد و دمای ۷۰- ذخیره شده بودند. جهت باز یافت نمونه‌های میکروبی، پس از ذوب ذخیره‌های منجمد در دمای اتاق، کشت تازه آنها در محیط کشت شکلاتی (دیفکو/ BD - امریکا) و به روش خطی تهیه شد. در زمان آزمایش سوسپانسیونی از کشت تازهٔ باکتریایی در PBS (pH : ۷/۲) با کدورت معادل ۰/۵ یا ۱ مک فارلند - بر حسب نوع آزمایش- تهیه شد(۱۳، ۱۴).

سویهٔ استاندارد:

از نایسریا منتجایتیدیس PTCC:۱۵۰۷ (مرکز پژوهش‌های علمی صنعتی تهران- ایران) در تمام آزمایش‌ها استفاده شد.

به منظورِ ارزیابی کُلی روش‌های آزمایش‌ها و با انتخاب شخصی، از استافیلوکوک ارئوس یا اشریشیا کُلای (کلکسیون باکتریایی آزمایشگاه) در مقاطعی از آزمایش‌ها نیز استفاده شد.

نمونه های سرم:

i) سرم‌های انتخابیِ افراد واکسینه، از خون شش سرباز مراجعه کننده به درمانگاه ارتش تهیه شد. این افراد سابقهٔ

Archive of SID
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

www.SID.ir

ابتلا به منتژیت نداشتند. بیش از یک ماه قبل از نمونه‌گیری با واکسن غیر کونژوگهٔ (A+C) منتگوکوکی واکسینه شده بودند و در طول یک ماه قبل از نمونه‌گیری آنتی‌بیوتیک مصرف نکرده بودند.

ii) سرم انتخابی افراد غیر واکسینه از خون شش نفر داوطلب تهیه شد. این افراد از نظر سلامت مشکلی نداشتند و در طول یک ماه قبل از نمونه‌گیری از آنتی‌بیوتیک استفاده نکرده بودند. جهت تهیه سرم، نمونه‌های خون در لوله‌های یک بار مصرف جمع‌آوری شده و پس از انعقاد در دمای اتاق، با سانتریفوژ یخچال دار(۳۰۰۰ rpm، 4° C، ۱۰ دقیقه) سانتریفوژ گردید.

iii) مجموعهٔ سرمی غیرانتخابی (pooled serum) از باقی مانده سرم تازهٔ افرادی‌که به آزمایشگاه بالینی بیمارستان دانشگاه مراجعه کرده بودند، برداشت شد. سرم‌های به دست آمده در لوله‌های یک بار مصرف جمع‌آوری و تا زمان آزمایش، در دمای ۲۰- درجه نگاه‌داری شد. در زمان آزمایش هر گروه سرمی i و ii و iii مخلوط و استفاده شد(۱۴).

نمونهٔ خون کامل:

در هر نوبت آزمایش ۱۰ میلی‌لیتر خون هپارینه از یکی از همکاران داوطلب سالم اخذ می‌شد. این افراد حداقل یک ماه قبل از نمونه‌گیری آنتی‌بیوتیک مصرف نکرده بودند. تا قبل از مخلوط کردن خون و باکتری، نمونه‌های خون در حمام یخ نگاه‌داری می‌شدند(۱۷-۱۵).

آزمایش SIC (serum inhibition concentration) و SBC(serum bactericidal concentration):

با استفاده از منابع به دست آمده(۱۳،۱۴،۱۷،۱۸) رقت‌های سریالی از سرم‌های آماده شده در محیط کشت مولر هینتون براث (مرک- آلمان) تهیه شد. شروع رقت‌ها $1/2$ بود. جهت انجام آزمایش ۲۰λ از سوسپانسیون تازهٔ باکتریایی - ۰/۵ مک فارلند- به هریک از رقت‌ها اضافه شد. ۴۸ -۲۴ ساعت پس از اینکوباسیون در دمای $37^{O}C$، کدورت حاصل از رشد باکتری با چشم غیر مسلح و در مقایسه با شاهد منفی (محیط کشت غیر آلوده به باکتری) ارزیابی و ثبت شد. جهت ارزیابی SBC ، نمونه‌ای از لولهٔ قبل از SIC به محیط کشت آگار شکلاتی منتقل و نتیجه پس از ۴۸ ساعت ارزیابی شد. کمترین رقتی از سرم که موجب مهار رشد/ کشته شدنِ ۹۹/۹ درصد از باکتری شده بود به عنوان SBC /SIC قلمداد می‌شد(۱۹،۱۴).

آزمایش SBA(Serum bactericidal assay) :

رشدِ گروه‌های مورد و شاهد منتگوکوکی در سرم رقیق نشدهٔ افراد واکسینه و افراد غیر واکسینه در فواصل زمانی صفر، ۰/۵، ۱، ۲، ۸ و ۲۴ ساعت سنجیده شد. اما به دلیل سرعت کاهش جمعیت منتگوکوک در ساعات اولیهٔ بررسی، مجدداً آزمایش در فواصل زمانی کوتاه تر یعنی صفر، ۱۵ ، ۳۰ ، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه تکرار شد(۱۳،۱۷،۲۰). ادامهٔ این آزمایش شبیه WBA بود که متعاقباً شرح داده خواهد شد.

آزمایش WBA (whole blood assay):

با بهره‌گیری از روش‌های استفاده شده توسط Ison, Stoika و Ahmed (۲، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۹) به اضافهٔ برخی تغییرات شخصی، به‌ترتیب زیر انجام شد. ابتدا در حمام یخ ml ۱۰ خون تازهٔ هپارینه ($WBC: \sim 8000/mm^{3}$) به حجم‌های ml ۰/۵ درهرلوله تقسیم شد. به هر یک از لوله‌ها λ ۵۰ سوسپانسیون باکتریایی، تهیه شده از کشت تازهٔ آن، اضافه شده و بلافاصله لوله‌ها در بن‌ماری 37^{oc} قرار داده شد. غلظت سوسپانسیون باکتری مطابق واحد ۱ مک فارلند با جمعیت معادل $3\times10^{8} \sim$ cfu (colony forming unit) انتخاب شد. در این صورت نسبت جمعیت باکتری به گلبول‌های سفید حدوداً ۱:۳۰ بود. تمام لوله‌ها در طول آزمایش یک تا چند بار به آرامی با دست حرکت داده می‌شد دقیقاً در زمان‌های صفر، ۱۵، ۳۰ ، ۶۰ و ۹۰ دقیقه پس از مخلوط کردن باکتری با خون

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

www.SID.ir

کامل، λ ۱۰ از هر نمونه به محیط کشت شکلاتی منتقل و کشت داده شد. پلیت‌ها در شرایط اُپتیمم (^{oc} ۳۷، ۱۰- ۵ درصد CO2) نگهداری و نتیجه کشت بعد از ۴۸ ساعت با شمارش کلنی‌های شکل گرفته در واحد حجم ارزیابی شد. از آنجا که هر نمونه بیش از یک بار مورد آزمایش قرار می‌گرفت، میانگین تعداد کلنی‌ها به عنوان نتیجهٔ نهایی محاسبه می‌شد. جهت اطمینان از فاگوسیته شدن باکتری‌ها ۱۵ نمونه به صورت تصادفی برداشت شده و گسترش تهیه شد. پس از رنگ آمیزی با روش گیمسا، ورود باکتری به سلول‌ها با میکروسکوپ بررسی گردید(۲۱،۱۶).

نتایج آزمایش های SBA و WBA بر اساس رابطهٔ زیر محاسبه گردید:

$$\text{باکتری های زنده مانده٪} = \frac{\text{cfu در هر فاصلهٔ زمانی}}{\text{cfu در زمان صفر}} \times ۱۰۰$$

محاسبات آماری:

درپایان هرآزمایش، مجموع و میانگین نتایج عددی به دست آمده از گروه‌های مورد یا شاهد محاسبه شد و در تهیهٔ جدول یا رسم نمودار مورد استفاده قرارگرفت.

یافته ها

جدول شمارهٔ ۱، SIC و SBC های مربوط به سه مجموعهٔ سرمی را در برابرگروه‌های مورد، شاهد، سویهٔ استاندارد منگوکک و همچنین باکتری‌های کنترل را نشان می‌دهد. میانگین رقتِ مهارکنندهٔ رشد یا کشندهٔ سرم‌های انتخابی(سرم افراد واکسینه و سرم غیر واکسینه) در برابر منگوکوک، $^{1}/_{2}$ بود. اما SIC و SBC به دست آمده از مجموعه سرمیِ غیر انتخابی علیه منگوکوک‌ها به ترتیب $^{1}/_{512}$ و $^{1}/_{1024}$ بود. همین مجموعهٔ سرمی در برابر اشریشیاکلای *تا رقت* $^{1}/_{128}$ و در برابر استافیلوکوک اُرئوس تا رقت $^{1}/_{2}$ موثر بود.

نمودار شمارهٔ ۱ و۲، نتایج آزمایش SBA (کاهش جمعیت باکتری‌ها در سرم رقیق نشده) را به ترتیب در فاصلهٔ زمانی ۱۲۰دقیقه و۲۴ساعت نشان می‌دهند. کاهش جمعیت هر دو گروه منگوکوکی مورد و شاهد در سرم رقیق نشده، با آهنگی شبیه هم و بسیار سریع صورت گرفت. اما کاهش جمعیت هر دو گروه در سرم کُهنه که به صورت اتفاقی یک شب در دمای اتاق مانده بود و در برنامهٔ آزمایش‌ها پیش‌بینی نشده بود، کُندتر بود. در این آزمایش نیز حساسیت گروه‌های مورد و شاهد در برابر سرم افراد واکسینه و غیر واکسینه شبیه هم بود.

نمودار شماره ۳ کاهش جمعیت منگوکوک‌های مورد و شاهد را به همراه باکتری‌های کنترل در برابر خون کامل با آزمایش WBA نشان می‌دهد. سیر کاهش جمعیت گروه مورد در این آزمایش آهسته‌تر از گروه شاهد بود. در این آزمایش اشرشیاکلای تا دقیقهٔ ۶۰ مقاومت کرد.

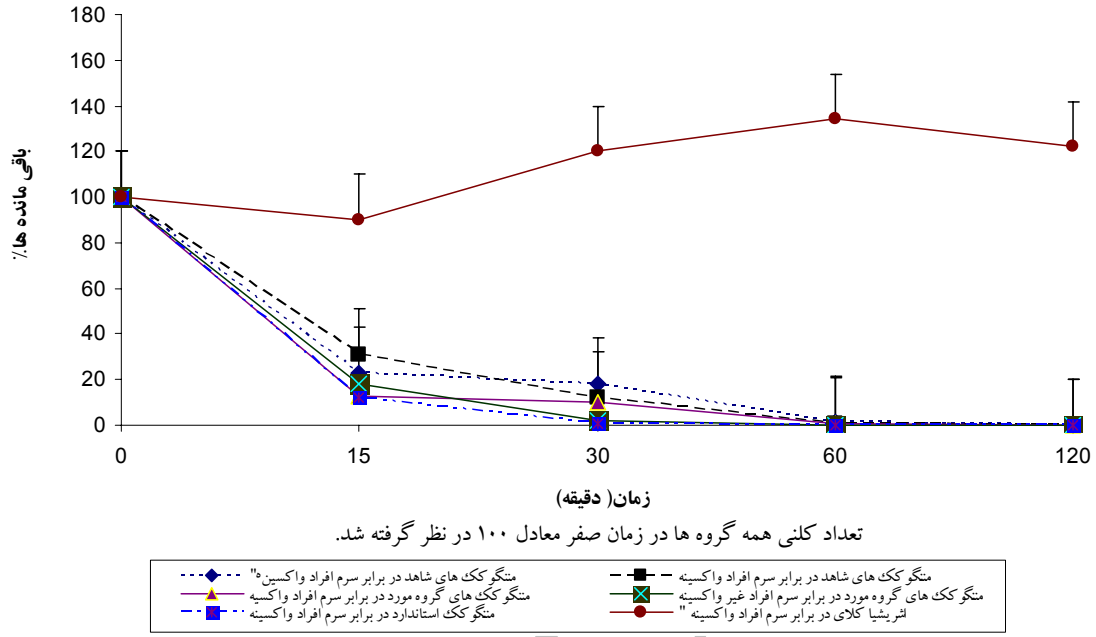
جدول شماره ۱: میانگین SIC و SBC در برابر گروه مورد، شاهد و سویهٔ استاندارد منگوکوک

باکتری / مورد آزمایش	غلظت سرمی مهارکننده رشد			غلظت سرمی کشنده		
	سرم افراد واکسینه	سرم افراد غیر واکسینه	مجموعهٔ سرم غیر انتخابی	سرم افراد واکسینه	سرم افراد غیر واکسینه	مجموعهٔ سرم غیر انتخابی
منگوکوک های جدا شده از حاملین	۱:۲	۱:۲	۱:۱۰۲۴	۱:۲	۱:۲	۱:۱۰۲۴
منگوکوک های جدا شده از بیماران	۱:۲	۱:۲	۱:۵۱۲	۱:۲	۱:۲	۱:۵۱۲
سویهٔ استاندارد منگوکوک	۱:۲	۱:۲	۱:۱۰۲۴	۱:۲	۱:۲	۱:۱۰۲۴
استافیلوکوک ✷ارئوس	ND	ND	۱:۲	ND	ND*	۱:۲
اشریشیا کلای†	ND	ND	۱:۳۲	ND	ND	۱:۱۲۸

†✷ باکتری هایی که به عنوان کنترل آزمایش شدند

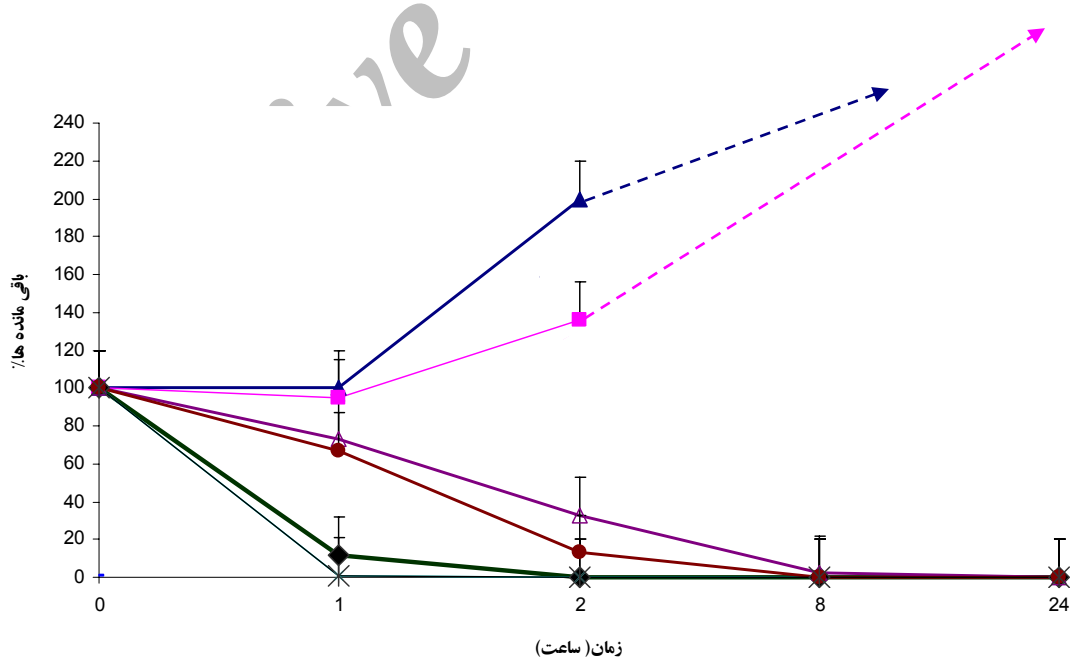
* تعیین نشد

Archive of SID
www.SID.ir
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]



تعداد کلنی همه گروه ها در زمان صفر معادل ۱۰۰ در نظر گرفته شد.

نمودار شماره ۱ : میانگین درصد جمعیت ایزوله های باقی مانده در آزمایش SBA ظرف ۱۲۰ دقیقه

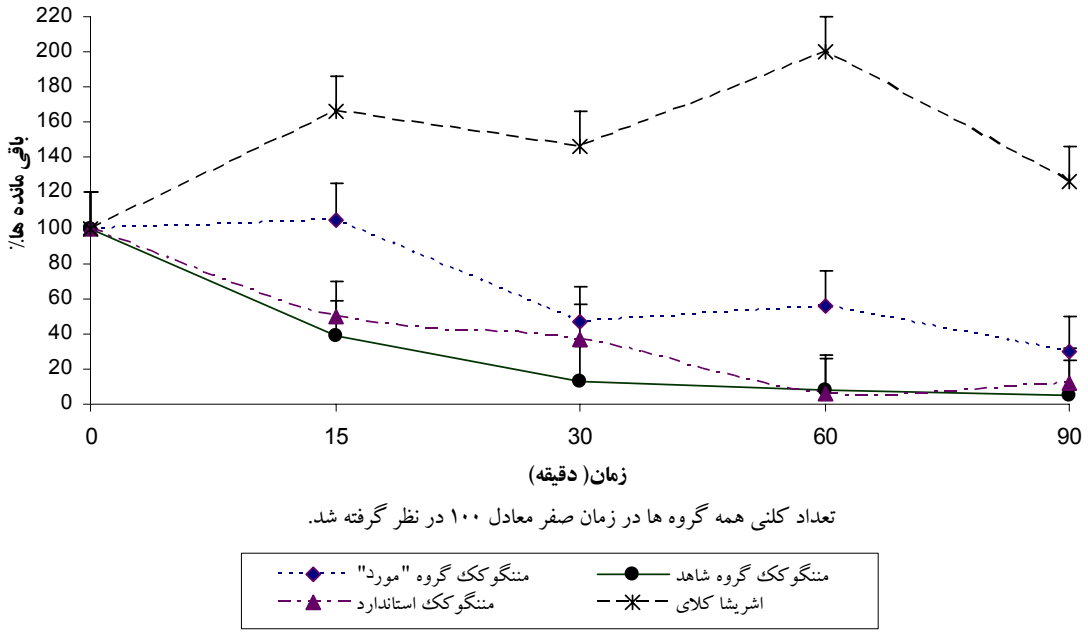


تعداد کلنی همه گروه ها در زمان صفر معادل ۱۰۰ در نظر گرفته شد.

نمودار شماره ۲ : میانگین درصد جمعیت ایزوله های باقی مانده در آزمایش SBA ظرف ۲۴ دقیقه

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

www.SID.ir



نمودار شماره ۳ : میانگین درصد جمعیت ایزوله های باقی مانده در آزمایش WBA

بحث

Ward در سال ۱۹۸۷نشان داد علیرغم آنکه منتگوکوک‌های مقاوم به سولفونامید گروه B بیش از سایر گروه‌ها از نمونهٔ بیماران جدا می‌شوند، اما در شرایط آزمایشگاه، حساسیت و مقاومت آن‌ها در برابر سلول‌های بیگانه خوار به مقاومت دارویی شان ارتباطی ندارد(۲۲). مقاومت سرمی اشرشیاکلای های عامل عفونت ادراری (UTI) نیز ارتباط قابل توجهی با مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها ندارد(۸). در حالیکه آزمایش‌ها نشان داده است، استافیلوکک‌های حساس به متی سیلین، به سلول‌های بیگانه خوار حساس‌ترند(۹). حساسیت سرمی کلبسیلا نومونیه و کلبسیلا اُکسی موراهای محیطی بیشتر از گونه های جدا شده از مدفوع بوده است(۲۳). اما Sahly در سال۲۰۰۴ رابطه‌ای بین وجود بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBL) و مقاومت سرمی در کلبسیلا نومونیه به دست نیاورد(۱۰). در شانزدهمین کنگرهٔ میکروب‌شناسی بالینی اروپا در سال ۲۰۰۶ مطرح شد که سودوموناس‌های مقاوم به چند دارو (MDR) و جدا شده از نمونهٔ بیماران بستری در بخش ICU، در برابر سرم انسانی هم مقاومت بیشتری نشان می‌دهند(۱۱).

در بررسی گذشتهٔ ما حساسیت آنتی‌بیوتیکی منتگوکوک‌های جدا شده از نمونهٔ بیماران در مجموع کمتر از ایزوله‌های به دست آمده از حاملین بود(۱۲)، اما در پژوهش حاضر، میانگین عیار به دست آمده از سرم‌های انتخابی (افراد واکسینه یا غیر واکسینه) در برابر هر دو گروه یکسان و به اندازهٔ $1/2$ بود. در مورد عیار به دست آمده از سرم‌های مورد آزمایش ما، اگر چه براساس آزمایش SIC/SBC ، حداقل عیار سرمی محافظت‌کننده را برای افراد غیر واکسینه، $1/4$ تا $1/8$ و برای افراد واکسینه بیش از $1/8$ تعیین نموده‌اند(۱۴، ۱۶، ۱۷، ۱۹)، اما ظاهراً ممکن است نتایج آزمایشگاه‌ها بدون دلیل با هم متفاوت باشد زیرا در بریتانیا یک نمونهٔ سرم را در چند آزمایشگاه مرجع منتگوکوک مورد آزمایش قرار داده‌اند و عیارهای متفاوتی از آن به دست

Archive of
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]
www.SID.ir

آورده‌اند(۱۴). علاوه بر این، تمام آزمایش‌های سرمی این بررسی با سرم محافظت شده در دمای زیر صفر و بدون اضافه کردن کمپلمان انجام شد. بر اساس گزارش‌های به دست آمده، استفاده از کمپلمان سرمی یا پلاسمایی می‌تواند عیار SIC/SBC را تا دو رقت تغییر دهد(۲۴). اگر چه انتظار می رود بعد از واکسناسیون عیار SIC/SBC ، ۴ مرتبه افزایش یابد(۲۵)، اما در آزمایش‌های ما عیار به دست آمده از سرم افراد واکسینه (با واکسنA+C) در برابر هر دو گروه منینگوککیِ مورد و شاهد، بیش از عیار سرم افراد غیر واکسینه نبود. Ison در سال ۲۰۰۳ و در جریان یک مطالعه وسیع نشان داد عیار پایین SBC معرف ایمنی ضعیف نیست(۷).

مقاومت منینگوکوک‌های گروه مورد در برابر سرم غیرانتخابی تا رقت ۱/۵۱۲ وگروه شاهد تا رقت ۱/۱۰۲۴ بود. درحالیکه استافیلوکوک آرئوس به رقت ۱/۲ و اشریشیاکلای به رقت ۱/۱۶ حساس بودند. سرم غیرانتخابی، مخلوطی از باقی مانده سرم بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه بیمارستانِ دانشگاه بود. احتمالاً برخی از سرم‌های مجموعهٔ فوق، حاوی آنتی‌بیوتیک بوده‌اند و تفاوت قابل توجه بین نتایج مربوط به منینگوکوک و باکتری‌های کنترل، می‌تواند معرف حساسیت فوق‌العاده منینگوکوک‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها باشد.

تمام رقت‌های سریالی در محیط کشت مولر هینتون براث تهیه شد. شایان ذکر آنکه با بررسی رشد باکتری‌ها با روش شمارش کلنی‌ها ملاحظه شد در ۸۰ درصد موارد شدت رشد منینگوکوک در لوله‌های کنترل (بدون سرم)، ۸۰-۲۰ درصد کمتر از لوله‌های تست بود (سوابق نشان داده نشده است). این مشاهدات کشمکش عوامل حمایت کننده و مهار کنندهٔ منینگوکوک را درخون انسان، در شرایط آزمایشگاه نشان می‌داد. در آزمایش SBA، کاهش جمعیت گروه مورد و شاهد بسیار سریع اتفاق افتاد (نمودار شماره۲). ایزوله‌های تحت آزمایش در پژوهش حاضر چند بار تجدیدِ کشت شده بودند. در مورد نایسریا گونوره آ(گونوکوک) مشاهده شده است که گونوکوک‌های جدا شده از نمونه مجرا در مقایسه با ایزوله‌هایی که چند بار پاساژ داده می‌شوند، در برابر اثر کُشندهٔ سرم مقاومت‌ترند(۲۶).

کمپلمان نقش تعیین کننده‌ای در پاسخ سیستم ایمنی در برابر بیماری‌های سیستمیک منینگوکوکی (SMD) دارد(۲۵،۲۴). در پژوهش حاضر نیز مشاهده شد. سرم کهنه (سرم‌هایی که بر حسب تصادف به مدت یک شب در آزمایشگاه مانده بودند) دارای اثر ضد منینگوکوکی کمتری از سرم تازه است (نمودار شمارهٔ ۲).

در WBA، روند کاهش جمعیت گروه مورد آهسته‌تر ازگروه شاهد بود. اگر چه در پایان زمان آزمایش (دقیقهٔ ۹۰) جمعیت هر دو گروه به هم نزدیک بود. در این آزمایش جمعیت اشرشیاکلی تا ۶۰ دقیقه کاهش نیافت(نمودار شمارهٔ ۳). بررسی میکروسکوپی نشان داد در پایان زمان در نظر گرفته شده ۱/۲ تا ۴/۵ گلبول‌های سفید حدود ۴-۱ زوج منینگوکوک را فاگوسیته کرده بودند. آزمایش‌های Ison نشان داده است خون کاملِ بسیاری از افراد بالغ در شرایط آزمایشگاه بر منینگوکوک‌های گروه B اثر کُشنده دارد(۱).

از آزمایش‌های سرمی SIC/SBC در موارد مختلف استفاده می‌شود(۲۷ ، ۲۸). اما نتایج بررسی حاضر نشان داد روش WBA بهتر از آزمایش‌های سرمی می‌تواند تفاوت مقاومت منینگوکوک‌های مهاجم را با ایزوله‌های غیر مهاجم، در برابر عوامل ایمنی طبیعی به نمایش بگذارد. در WBA باکتری در برابر تمام اجزای ایمنی غیر اختصاصی قرار می‌گیرد(۱). این آزمایشِ ساده اگر چه ۸۰ سال قبل ابداع شده است(۲، ۲۹) اما همچنان در زمینه‌های مختلف مورد استفادهٔ محققین قرار می‌گیرد(۳۰،۳۱).

براساس نتایج به دست آمده، مقاومت سرمی دو گروه منینگوکوکی مهاجم و غیر مهاجم یکسان بود اما

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

www.SID.ir

منگوکوک‌های مهاجمِ گروه B، در مقایسه با منگوکوک‌های غیر مهاجم در برابر اثر کُشندگی خون کامل، مقاومت بیشتری نشان دادند. نکتهٔ قابل ذکر آنکه بر اساس مشخصات فنوتیپیِ مقاومت، ایزوله های شماره ۴ و ۶ در گروه مورد، شبیه ایزوله‌های شاهد بودند در مقابل ایزولهٔ شمارهٔ ۶ گروه شاهد بیشتر شبیه منگوکوک‌های مهاجم در گروه مورد بود.

References

1. Ison CA, Anwar N, Cole M J, Heyderman GRS, Klein NJ, et al. Assessment of immune response to meningococcal disease: Comparison of a whole-blood assay and the serum bactericidal assay. Microbiol Pathogenesis 1999; 27(4): 207-214.
2. Jordens JZ, Williams JN, Jones GR, Christodoulides M and Heckels JE. Development of immunity to serogroup B meningococci during carriage of Neisseria meningitidis in a cohort of university students. Infect Immun 2004; 72(11): 6503-6510.
3. Troncoso G, Sanchez S, Criado M.T, Ferreiros C. M. Analysis of Neisseria lactamica in acquisition of natural immunity to Neisseria meningitis. FEMS Immunol Med Microbiol 2002; 34: 9-15.
4. Oliver K J, Reddin K M, Bracegirdle P, Hudson M J, Borrow R. Neisseria lactamica Protects against experimental meningococcal infection. Infect Immun 2002; 70: 3621-3626.
5. Gorringe AR. Can Neisseria lactamica antigens provide an effective vaccine to prevent meningococcal disease? Expert Rev Vaccines 2005; 4(3): 373-379.
6. Stollenwerk N, Maiden M.CJ, Jansen V AA. Diversity can cause outbreaks of meningococcal disease. PNAS 2004; 101(27):10229-10234.
7. Ison CA, Anwar N, Cole MJ, Pollard AJ, Morley SL, et al. Age dependence of in vitro survival of meningococci in whole blood during childhood. Pediatr Infect Dis J 2003; 22: 868-873.
8. Hughes C, Philips R, Roberts A P. Serum Resistance among Escherichia coli strain causing urinary tract infection in relation to O type and the carriage of hemolysin, colicin, and antibiotic resistance determinants. Infect Immune 1982; 35(1): 270-275.
9. Vaudaux P, Waldvogel FA. Methicillin resistant stains of Staphylococcus aureus: relation between expression of resistance and phagocytosis by polymorphonuclear leukocytes. Acta Paediatr 2002; 91(6): 626-31.
10. Sahly H, Aucken H, Benedi V J, Forestier C, Fussing V, Hansen DS, et al. Increased serum resistance in Klebsiella pneumonia strains producing extended-spectrum β-lactamase. Antimicrob. Agents Chemother 2004; 48(9): 3477-3482.
11. Vitkauskiene A, Dudzevicius V, Adukauskiene D, Braziulyte J, Sabaniauskaite R, Sakalauuskas R, et al. Influence of serum- resistance properties and multidrug- resistance of Pseudomonas aeroginosa on mortality and duration of mechanical ventilation in patients with Pseudomonas aeroginosa pneumonia. 16th ESCMID. 2006; Abstract number: p1264
12. Eslami Nejad Z, Esmaili M, Adeli N S, Iranmanesh Z, Honarvar Sh. Neisseria meningitides. carrier rate among military recruits in Kerman, southeast of Iran. Arch Iranian Med 2005; 8(4): 304-310.
13. Martin D, McCallum L, Glennie A, Ruijne N, Blatchford P, et al. Validation of the serum

Archive of SID
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]
www.SID.ir

bactericidal assay for measurement of functional antibodies against group B meningococci associated with vaccine trials. Vaccine 2005; 23: 2218-2221.

14. Klein RD, Edberg SC. Application, significance of, and method for the measurement of antimicrobial concentration in body fluid. In: Lorian V. (editor). Antibiotics in laboratory Medicine. 5th edition. Lippincott Williams& Wilkins. 2005; Chap 8: 309.
15. ORPEGEN Pharma. PHAGOTEST. Test kit for the quantification of phagocytic activity of monocytes and granulocytes in heparinized whole blood. 1996; Available at: www.orpegen.com/work/en/products/diagnostics/phagotest.php
16. Stoika R, Kaskchak N, Lutsik-kordovsky M, Boyco M, Barska M. In vitro response of phagocytic cell to immuno-modulating agents. Med Sci Monit 2001; 7(4): 652-658.
17. Ahmed H J, Johansson C, Svensson L A, AhlmanK K, Verdrengh M, et al. In vitro and in vivo interactions of Haemophilus ducreyi with host phagocytes. Infect Immun 2002; 70(2): 899-908.
18. Martin DR, Glennie A, Ruijne N, McCallum L, Blatchford P, et al. Standardization and validation of the serum bactericidal assay for measurement of immune responses to serogroup B Neisseria meningitides Clin Diagn Lab Immunol 2005; 12(8): 970-976.
19. Amsterdam D. Susceptibility testing of antimicrobials in liquid media. In: Lorian V. (editor). In: Antibiotics in Laboratory Medicine. 4th ed. Lippincott Williams& Wilkins. 1996; p: 52-111.
20. Occhionero M, Usai G, Di Martino M, Le Moli S, Stroffolini T, Mastrantonio P. Serum antibodies to capsular polysaccharide vaccine of group A and C Naisseria menigitidis in military recruits in Italy.(abs) Allergol Immunopathol (Madr) 1991; 19(1): 39-41.
21. Muniz-Junqueira MI, Pecanha LMF, Saliva-Filho VL, Cardoso MCA, Tosta CE. Novel microtechnique for assessment of postnatal maturation of the phagocytic function of neutrophils and monocytes. Clin Diagn lab Immunol 2003; 10(6): 1096-1102.
22. Ward KN, Fleer A, Verhoef J, Jones DM. Opsonisation and phagocytosis of group B meningococci by polymorphonuclear leucocytes: comparison of sulphonamide sensitive and resistant strains. J Clin Pathol 1987; 40(4): 361-367.
23. Podschun R, Teske E, Ullmann U. Serum resistance properties of Klebsiella pneumoniae and K. oxitoca isolated from different sources. (abs) Zentralbl Hyg Umweltmed 1991; 192(3): 279-285.
24. Santose GF, Deck RR, Donnelly J, Blackwelder W and Granoff D M. Importance of complement source in measuring meningococcal bactericidal titer. Clin Diagn Lab Immunol 2001; 8(3): 616-623.
25. Borrow R, Balmer P, Miller E. Meningococcal surrogate of protection- serum bactericidal antibody activity. Vaccine 2005; 23: 2222-2227.
26. Parson NJ, Patel PV, Martin PM, Tan EL, Nairn CA, et al. Gonococci in vivo and in vitro. Further studies on the host and bacterial determinants of gonococcal resistance to killing by human serum, and by phagocytes. (abs). Antonie Van Leeuwenhoek 1987; 53(6): 551-55.
27. Beninati C, Midiri A, Mancuso G, Biondo C, Arigò M, Gerace E, et al. Anti-idiotypic DNA vaccination induces serum bactericidal activity and protection against group B meningococci. JEM 2006; 203(1): 111-118.

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

www.SID.ir

28. Rezaei N, Aghamohammadi A, Seyed Davar S, Nejati M, Ahmadi H, et al. Serum bactericidal antibody response to serogroup C polysaccharide meningococcal vaccination in children with primary antibody deficiencies. Vaccine 2007; 25(29): 5308-5314.
29. Kaneee J M, Jhonson DW, Anderson RK, Moscoplat CC. Comparison of sensitivity and specificity of purified lymphocyte and whole-blood in vitro lymphocyte stimulation assays in detection of Brucella abortus infection in cattle. (abs). J Clin Microbial 1987; 8(4): 396- 401.
30. Shankey TV, Forman M, Scibell. Optimized whole-blood assay for measurement of ZAP-70 protein expression. Curr Protoc Cytom 2007; chap 9.
31. Gorski K, Ferbas J, Tsuji W. A Whole Blood Assay for evaluation of natural killer cell functional activity.(abs).Clin Immunol 2008; 127(Suppl 1):S150.Available at:doi:10.1016/ j.clim.2008.03.431

Archive of SID

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

www.SID.ir