ردیابی مایکوپلاسما پنومونیه در مایع مغزی نخاعی کودکان: تعیین کمّی آنتی‌بادی اختصاصی CSF

ثمیله نوربخش[۱*]، مهدی شکرابی[۲] زهره کلباسی[۳]، آذر دخت طباطبایی[۴] حسن تنکابنی[۵]، لادن افشار خاص[۶] محمد وفایی شاهی[۳]

۱- گروه عفونی کودکان
۲- گروه ایمونولوژی
۳- گروه کودکان، دانشگاه علوم پزشکی ایران
۴- فوق لیسانس میکروب‌شناسی

مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی ایران

۵- گروه اعصاب کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، بیمارستان مفید
۶- گروه اعصاب کودکان، دانشگاه علوم پزشکی ایران

تهران، ایران

* نویسنده مسئول: تهران، ستارخان، نیایش، مجتمع رسول اکرم (ص)، طبقه چهارم، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی کودکان، تلفن: ۶۶۵۲۵۳۲۸
email: samileh_noorbakhsh@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۱۲/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۳/۰۸

چکیده

زمینه و هدف: عفونت مایکوپلاسمایی در کودکان شایع بوده و شناخت علایم عصبی ناشی‌از آن ازنظر شروع درمان سریع اهمیت ویژه‌ای دارد. هدف مطالعه مقایسه میزان آنتی‌بادی اختصاصی مایکوپلاسما پنومونیه در مایع مغزی نخاعی کودکان تب‌دار با درگیری حاد سیستم عصبی مرکزی (مننگوآنسفالیت، گیلن باره، میلیت عرضی، آتاکسی) با کودکان بدون علایم‌عصبی بود. ***روش بررسی:*** در یک بررسی مقطعی- مورد شاهدی (۸۸-۱۳۸۶) در بخش کودکان بیمارستان‌های رسول‌اکرم و مفید تهران با روش الیزا، IgG اختصاصی مایکوپلاسما پنومونیه در مایع مغزی نخاعی ۵۵ مورد و ۱۰ شاهد اندازه‌گیری شد. بعد از مقایسه متغیرها، حساسیت و ویژگی تست با تعیین سطح زیر منحنی راک مشخص شد. ***یافته‌ها:*** بیماران بین پنج ماه تا ۱۳سال (میانگین ۳/۸۴±۳/۴۳ سال) بودند. آنتی‌بادی بیماران بالاتر از گروه شاهد بود و هم‌خوانی ضعیفی بین بیماران و شاهد وجود داشت (۰/۲۶±۰/۰۸ در برابر ۰/۰۰۱±۰/۰۰۱، p=۰/۰۲). در منطقه زیر منحنی ROC معادل ۰/۸۷ (۰/۹۶-۰/۷۸، 95% CI) (p<۰/۰۰۰۱) و Cut off آنتی‌بادی ۰/۰۰۲۵ با حساسیت ۷۳٪، ویژگی ۹۰٪، ارزش اخباری‌مثبت ۱۰۰٪ و ارزش اخباری‌منفی ۲۸/۸٪ بود. کمترین سطح آنتی‌بادی در مننژیت آسپتیک و بالاترین در گیلن باره و علایم نورولوژیک فکال بود. ***نتیجه‌گیری:*** مقادیر اندک (۰/۰۰۲۵) آنتی‌بادی اختصاصی مایکوپلاسما در مایع مغزی نخاعی کودکان تشخیصی است. این تست در کودکان تب‌دار با علایم عصبی‌حساسیت ۷۳٪ و ویژگی ۹۰٪ و ارزش اخباری‌مثبت بالا (۱۰۰٪) اما ارزش اخباری‌منفی پایین (۲۸/۸٪) دارد. مایکوپلاسما یکی از موارد نادر مننژیت آسپتیک کودکان است. وجود DNA مایکوپلاسما در مایع نخاع شایع نبوده (۲٪)، اما در موارد مشکوک افزودن این تست به اندازه‌گیری آنتی‌بادی در مایع نخاع کمک‌کننده است.

کلمات کلیدی: الیزا، مننگوآنسفالیت، آنتی‌بادی اختصاصی مایکوپلاسما پنومونیه، مایع مغزی نخاعی.

مقدمه

عفونت مایکوپلاسما (Mycoplasma) در کودکان شایع بوده و علاوه بر عوارض ریوی طیف وسیعی از عوارض سیستمیک غیر ریوی مانند راش‌های متنوع جلدی، سندرم استیونس جانسون عوارض عصبی (گیلن باره، آنسفالیت، مننژیت آسپتیک) و قلبی ایجاد می‌کند.[۱و۲] درگیری سیستم عصبی متعاقب عفونت مایکوپلاسما در ۱۰۰۰/۱ موارد و اغلب به‌صورت آنسفالیت گزارش می‌شود. مکانیسم های اتوایمون تاخیری در ایجاد عوارض سیستم عصبی مرکزی (مانند مننگوانسفالیت، میلیت عرضی، مننژیت آسپتیک، آتاکسی مخچه‌ای، فلج بل، کری، سندرم ساقه مغزی، سندرم گیلن باره) پس از بیماری تنفسی و با فاصله سه تا ۲۳ روز (به طور متوسط ۱۰ روز) بعد دیده می‌شود.[۳و۴] در ۲۰٪ موارد قبل از پیدایش عوارض عصبی سابقه ابتلا به عفونت تنفسی ذکر نمی‌شود. مایع نخاع معمولاً طبیعی است.[۵-۱۲] مکانیسم‌های نوروتوکسیک و ایمونولوژی منجر به ادم، میکروترومبوز و دمیلینیزاسیون می‌گردد. با بهبود روش‌های تشخیصی نقش عفونت در علایم عصبی واضح خواهد شد.[۱۳-۱۶] به‌علت مشکل بودن کشت و رشد کند میکروارگانیسم در استفاده از کشت محدودیت وجود دارد. تشخیص این عفونت از روش‌های سرولوژیک و نیز روش بسیار حساس‌و اختصاصی PCR در مایع نخاع می‌توان استفاده کرد. اگرچه حساسیت تست‌های سرولوژی برای تشخیص عفونت حاد مانند PCR ۱۰۰٪ نیست. اما به‌علت سهولت و قیمت کمتر و در دسترس بودن به‌عنوان تست سریع، حساس و اختصاصی به‌ویژه در همه‌گیری‌ها

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-29]

پیشنهاد می‌گردد.[۱۷و۱۸] گزارشات متعددی از بهبود عوارض عصبی مایکوپلاسما مانند آنسفالیت، میلیت عرضی و آتاکسی مخچه‌ای و ساقه مغزی و نوروپاتی محیطی و پلی میوزیت با استفاده از متیل پردنیزولون وجود دارد. این عفونت به اریترومایسین خوراکی و یا ماکرولیدهای جدید مانند آزیترومایسین و یا کلاریترومایسین پاسخ می‌دهد و در مواردی هم کورتیکوستروییید توصیه می‌شود.[۱۹و۲۰] تب همراه با علایم متنوع درگیری سیستم عصبی، از موارد شایع بستری در کودکان کشور را تشکیل می‌دهد. متاسفانه در اغلب موارد عامل اتیولوژیک شناخته نمی‌شود.[۲۱-۲۴] اطلاع از نقش عفونت مایکوپلاسما در کودکان بستری با تب و درگیری حاد سیستم عصبی (مانند مننگو آنسفالیت، آتاکسی؛ گیلن باره، میلیت عرضی و غیره) اهمیت ویژه‌ای دارد. چون می‌توان پروتکل‌های تشخیصی و درمانی مناسب را در نظر گرفت. برای تعیین نقش و ردپای عفونت مایکوپلاسما در این کودکان این مطالعه انجام گرفت. هدف این مطالعه مقایسه میزان آنتی بادی اختصاصی مایکوپلاسما پنومونیه در مایع مغزی نخاعی کودکان تب‌دار همراه با درگیری حاد سیستم عصبی مرکزی (مننگوآنسفالیت، گیلن باره، میلیت عرضی، آتاکسی) با کودکان بدون علامت است.

روش بررسی

این مطالعه مقطعی مورد شاهدی بر روی ۱۳۲ کودک کمتر از ۱۴ سال با درگیری حاد سیستم عصبی مرکزی، بستری در بخش کودکان بیمارستان رسول اکرم (۸۸-۱۳۸۶) تهران با روش نمونه‌گیری آسان انجام شد. این طرح بعد از تایید در کمیته اخلاق مرکز تحقیقات عفونی کودکان دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام گرفت. در تمامی بیماران بعد از گرفتن رضایت کتبی از والدین پونکسیون مایع نخاع (LP) انجام شد. انجام تست‌های آنتی‌بادی بدون هزینه‌ای برای بیماران انجام شد. با نظر پزشک معالج از کودکانی که معیارهای تشخیصی به‌نفع درگیری سیستم عصبی مرکزی داشتند پرسشنامه (فرم ضمیمه) پرشده و نتایج معاینات بالینی به‌ویژه مربوط به سیستم عصبی ذکر می‌گردید. تمام بیماران بستری بوده و به‌علت بدی حال عمومی و نظر پزشک مسئول جهت تشخیص قطعی و تصمیم‌گیری در نوع درمان نیاز به LP داشتند. بعد از انجام تست‌های اولیه (روتین) در صورت کافی بودن مایع نخاع (CSF) (مطابقت با معیارهای تشخیصی) نمونه‌ها انتخاب و مورد بررسی آنتی‌بادی قرار گرفت.

گروه کنترل: بیمارانی که فاقد علایم عصبی نه در ابتدا و نه در سیر بیماری بودند. در این بیماران اغلب برای کنار گذاشتن مننژیت توسط پزشک مسئول اولیه LP انجام شد. از باقیمانده مایع نخاع این گروه در صورتی که تغییری در مایع نخاع وجود نداشت (منفی بودن کشت، اسمیر، بیوشیمی و سایر بررسی‌های لازم)، و نکته‌ای هم به نفع درگیری عصبی نداشت، به‌عنوان کنترل استفاده گردید. طبق مقررات داخلی بخش و کمیته اخلاق، از والدین تمامی بیماران برای انجام LP فرم موافقت‌نامه پر و امضا می‌شود. تعیین نیاز به انجام پونکسیون مایع نخاع توسط پزشک مسئول برای هر کودک بدون دخالت محققین انجام گرفت. در صورت نداشتن موافقت والدین انجام نمی‌گرفت تعداد زیادی از بیماران به همین دلیل از مطالعه حذف می‌شوند. معیارهای ورود به مطالعه عبارتند از معیارهای تشخیص درگیری سیستم عصبی مرکزی: گیلن باره، آتاکسی مخچه‌ای، مننگو آنسفالیت مطابق تعریف مننگوآنسفالیت آسپتیک شامل: تب به‌همراه یکی از علایم (تهوع استفراغ، سردرد، تشنج، خواب‌آلودگی، کاهش سطح هشیاری)، وجود علایم گرفتاری سیستم عصبی‌مرکزی در هنگام ورود شامل علایم مننژه مثبت (سفتی‌گردن، کرنیگ و برودزنسکی)، افزایش فشار داخل جمجمه، یافته‌های عصبی غیرطبیعی و مانند آن بود. معیارهای خروج بیماران شامل مثبت بودن کشت باکتریایی (از خون، مایع نخاع یا سایر نواحی استریل بدن)، تغییرات مایع نخاع به‌نفع مننژیت باکتریال، وجود سایر علل عفونی شناخته شده (اوریون، آبله مرغان، هرپس، سایتومگالوویروس و غیره) علل غیر عفونی و غیرحاد درگیری‌های سیستم عصبی مرکزی مانند خون‌ریزی مغزی، تومور یا بیماری‌های دژنراتیو و متابولیک که منجر به علایم عصبی می‌شوند، موارد نقص ایمنی، بود. با نظر پزشک معالج بیمارانی که نیاز به انجام پونکسیون مایع نخاع داشتند مشخص شده و سپس باقیمانده مایع نخاع به‌دست آمده از بیمار در لوله استریل به آزمایشگاه تحقیقاتی بیمارستان رسول اکرم منتقل‌و تا زمان آزمایش در فریزر ^{o}C ۸۰- نگهداری شد. آنتی‌بادی اختصاصی *Mycoplasma pneumoniae*- IgG در مایع نخاع به‌روش الیزا اندازه‌گیری شد. مشخصات کیت مورد استفاده شامل *Mycoplasma pneumoniae*- IgG ElISA Medical- diagnostica Germany, Hamburg طبق دستورالعمل شرکت سازنده نمونه با محلول رقیق‌کننده به نسبت ۱/۱۰۰ رقیق می‌شود، ۵۰ لاندا از کالیبراتور، کنترل مثبت و کنترل منفی و نمونه رقیق‌شده در هر کدام از

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-29]

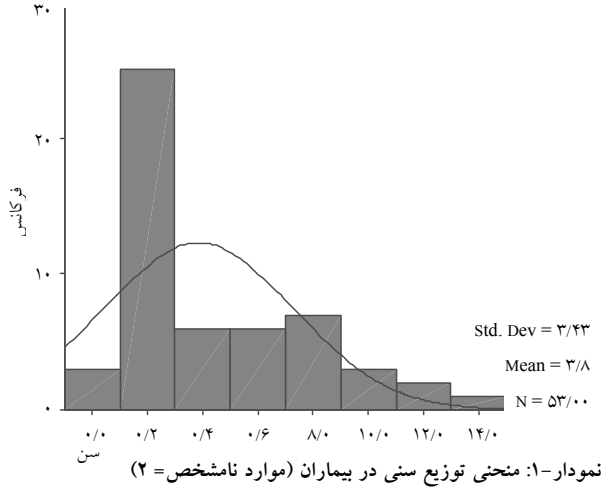
چاهک‌ها ریخته شد. به‌مدت یک ساعت در حرارت ۳۷ °C قرار داده شد و بعد از یک ساعت پلیت را با محلول شستشوی از قبل رقیق شده چهار بار شستشو و با رطوبت‌گیر خشک شد. از کونژوگه آماده به‌میزان ۵۰ لاندا ریخته و آن‌را پوشانده به‌مدت یک ساعت در انکوباتور ۳۷ °C قرار داده و پلیت را شستیم. ۵۰ لاندا محلول رنگ‌زا اضافه و به‌مدت نیم ساعت در ۳۷ °C انکوبه کردیم. بعد از نیم‌ساعت ۱۰۰ لاندا محلول متوقف‌کننده افزوده و سپس با دستگاه EIISA Reader در طول موج ۴۵۰ نانومتر در برابر طول موج رفرانس ۶۲۰-۶۰۰ خواندیم. غلظت Ab با فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{غلظت آنتی‌بادی} = \frac{\text{بیمار OD} \times \text{OD Nominal calibrator}}{\text{OD calibrator}}$$

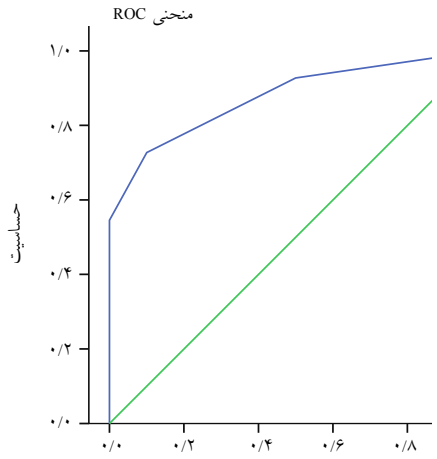
تحلیل اطلاعات با نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۱ انجام شد. آمار توصیفی (شامل میانگین و انحراف معیار) برای متغیر سن و برای متغیرهای کیفی مانند جنس و کاهش سطح هشیاری و غیره از شاخص درصد، آمار تحلیلی شامل χ^2 با (CI=٪۹۵) و سطح معنی‌دار کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. در تعیین رابطه بین مثبت شدن تست CSF- *Mycoplasma pneumoniae*-IgG با سایر متغیرهای کیفی از χ^2 و یا تست فیشر استفاده شد. حساسیت و ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی تست با تعیین سطح زیر منحنی راک مشخص شد.

یافته‌ها

بعد از حذف موارد با تشخیص‌های دیگر، در نهایت ۵۵ بیمار دارای معیارهای تشخیص بوده و وارد مطالعه شدند. مشخصات ۵۵ کودک (با تب و تابلوی علایم حاد عصبی ناشناخته): ۶۶/۷ پسر (۴۲ نفر) و ۳۳/۳٪ (۲۱ نفر) دختر و توزیع سنی در نمودار ۱ دیده می‌شود. (سن بین پنج ماه تا ۱۳ سال، میانگین ۳/۸۴ انحراف معیار ±۳/۴۳ سال). بستری ۳۲/۷٪ کودکان در فصل زمستان و ۲۵٪ پاییز و ۲۳٪ تابستان و کمترین تعداد ۱۹/۲٪ در فصل بهار بود. پاییز و زمستان شایع‌ترین



نمودار-۱: منحنی توزیع سنی در بیماران (موارد نامشخص= ۲)



نتایج تست (متغیر): غلظت ایمونوگلوبولین

ویژگی	حساسیت	مقادیر مثبت برابر یا بالاتر از
۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	-۱/۰۰۰۰
۰/۵۰۰	۰/۹۲۷	۰/۰۰۰۹
۰/۱۰۰	۰/۷۲۷	۰/۰۰۲۶
۰/۰۰۰	۰/۵۴۵	۰/۰۰۴۳
۰/۰۰۰	۰/۳۲۷	۰/۰۰۶۰
۰/۰۰۰	۰/۲۵۵	۰/۰۰۷۷

نمودار-۲: جدولو منحنیROC مربوطبه وجود آنتی‌بادی در دو گروه‌بیمار وشاهد

جدول-۱: ارتباط بین شاخص‌های آماری و سطح آنتی‌بادی مایع نخاع

متغیر	میزان آنتی‌بادی در مایع مغزی نخاعی (mg/dl)
سطح کات‌آف آنتی‌بادی	۰/۰۰۲۵
حساسیت (٪)	٪۷۳
ویژگی (٪)	٪۹۰
ارزش اخباری مثبت (٪)	٪۱۰۰
ارزش اخباری منفی (٪)	٪۲۸/۸
اندکس کاپا	۰/۰۷
سطح زیر منحنی ROC	۰/۸۷(۰/۷۸-۰/۹۶)

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-29]

جدول-۲: مقایسه سطح آنتی‌بادی در مایع مغزی نخاعی در گروه بیماران

وجود علایم بیماری	میزان آنتی‌بادی IgG در مایع مغزی نخاعی (Mean ± SD)		p*
	مثبت	منفی	
درگیری سیستم عصبی	۰/۰۸±۰/۲۶	۰/۰۰۱±۰/۰۰۱	۰/۰۲
منتژیت	۰/۰۰۶±۰/۰۰۵	۰/۹۷±۰/۲۸	۰/۰۳
تشنج	۰/۹۷±۰/۲۸	۰/۹۷±۰/۲۹	۰/۹
وجود علایم لکالیزه عصبی	۰/۱۸±۰/۴۷	۰/۰۷±۰/۲۲	۰/۵
گیلن باره	۰/۲۱±۰/۴۷	۰/۰۰۵±۰/۲۱	۰/۳

آزمون آماری مورد استفاده χ^2 (CI=95%) ، مقادیر p<۰/۰۵ معنی‌دار بود

فصل بستری بیماران بود. تشنج شایع‌ترین تظاهر بالینی در ۶۵٪ (۲۸ نفر) بیماران دیده شد. کاهش سطح هوشیاری در ۳۳/۳٪ (۱۷ نفر) بیماران، تغییرات مایع نخاع به‌نفع منتژیت در ۱۷/۶٪ (۹ نفر)، مشاهده گردید. گیلن باره در ۱۷٪ (۹ نفر) و سایر علایم عصبی به‌مراتب کمتر دیده شد. در ۵۵ بیمار میزان آنتی‌بادی اختصاصی مایع نخاع علاوه بر مقایسه با کنترل داخلی کیت‌های مربوطه، با مایع نخاع ۱۰ کودک بدون درگیری سیستم عصبی مرکزی مقایسه گردید. یک پسر هفت ساله مبتلا به نوریت اپتیک تیتر بالای آنتی‌بادی بر علیه مایکو پلاسما پنومونیه در خون و CSF (هر دو) داشت. دختر ۱۱ ساله‌ای هم با تیتر بالای آنتی‌بادی در مایع نخاعی مبتلا به آنسفالیت بود. اطلاعات آماری میزان آنتی‌بادی در مایع نخاع در جدول ۱ و در نمودار ۲، جدول و منحنی راک نشان داده شده است.

AUC معادل ۰/۸۷ (CI= %95; ۰/۷۸-۰/۹۶) (p<۰/۰۰۰۱)، با Cut off ۰/۰۰۲۵ سطح آنتی‌بادی حساسیت تست ۷۳٪ و ویژگی ۹۰٪، ارزش اخباری مثبت ۱۰۰٪ و ارزش اخباری منفی ۲۸/۸٪ تعیین شد. همان‌طور که در جدول و منحنی راک دیده می‌شود، از تعداد ۵۵ بیمار با علایم عصبی، ۴۰ نفر (۷۳٪) سطح آنتی‌بادی در CSF بالاتر از cut off level (۰/۰۰۲۵) و از تعداد ۱۰ کودک گروه شاهد (بدون درگیری عصبی) ۹ مورد (۹۰٪) سطح آنتی‌بادی مایع مغزی نخاعی پایین‌تر از cut off level داشته‌اند. بنابراین سطح آنتی بادی اختصاصی مایکوپلاسما در CSF کودکان می‌تواند در تشخیص این عفونت کمک‌کننده باشد (fisher test=۰/۰۰۱). مقایسه سطح آنتی‌بادی CSF بین گروه‌های مختلف بیماران در جدول ۲ نشان می‌دهد که گروه بیماران به‌طور معنی‌داری آنتی‌بادی بالاتری از گروه کنترل داشتند. p=۰/۰۲، ۰/۰۰۱±۰/۰۰۱ VS ۰/۰۸±۰/۲۶، Mean± SD. نکته‌مهم سطح بالای آنتی‌بادی در بیمارانی بود که فاقد علایم منتژیت بودند. (p=۰/۰۳). کمترین سطح آنتی‌بادی در بیماران با منتژیت آسپتیک دیده شد. اگرچه میزان آنتی‌بادی در مبتلایان به گیلن باره بالاتر از موارد بدون گیلن باره بود اما تفاوت معنی‌دار نبود (p=۰/۳). میزان آنتی‌بادی بین بیماران با و بدون تشنج تفاوتی نداشت (p=۰/۹). در بیماران با علایم لوکالیزه عصبی در مقایسه با بیماران فاقد آن میزان آنتی‌بادی بالاتر بود اما تفاوت معنی‌دار نبود.

بحث

در این مطالعه در گروه بیماران (تب توام با علایم عصبی) سطح آنتی‌بادی برعلیه مایکوپلاسما در مایع نخاع واضحاً بالاتر از گروه شاهد (سالم) بود (p=۰/۰۲۶). بنابراین کودکان سالم به‌طور معنی‌داری فاقد آنتی‌بادی موضعی بر علیه مایکوپلاسما (در مایع نخاع) هستند. وجود این آنتی‌بادی در مایع نخاع بیمارانی که تب و علایم عصبی داشتند ارزش اخباری مثبت بسیار بالا ۱۰۰٪ داشت. بنابراین میزان کم آنتی‌بادی در بیمارانی که علایم عصبی داشته باشند تقریباً همیشه دال بر ابتلا بیمار به عفونت مایکوپلاسمایی است. اما ارزش اخباری منفی آن ۲۸/۸٪ بود به این معنی که اگر بیماری فاقد آنتی‌بادی باشد با قطعیت نمی‌توان عفونت مایکوپلاسمایی را در بیمار کنار گذاشت و نیاز به اقدامات تکمیلی برای تشخیص دارد. ویژگی (۹۰٪) این تست برای افتراق بیماران از موارد سالم قابل قبول‌تر از حساسیت آن (۷۰٪) است. آنتی‌بادی در مایع نخاعی فقط ۱۰٪ اشتباه تشخیص (مثبت کاذب) وجود دارد ۹۰٪ بقیه موارد می‌تواند موارد واقعی ابتلا به عفونت مایکوپلاسمایی را از موارد غیر مبتلا افتراق داد. وقتی سطح Cut off آنتی‌بادی اختصاصی مایکوپلاسما در مایع نخاع ۰/۰۰۲۶ در

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-29]

نظر گرفته شد ۴۰ نفر از بیماران ما (۷۳٪) دارای آنتی‌بادی بالاتر از cut off level در مایع مغزی نخاعی بودند. اما ۹۰٪ گروه شاهد (بدون درگیری عصبی) سطح آنتی‌بادی مایع مغزی نخاعی پایین‌تر از cut off level و حتی صفر داشتند و مثبت کاذب با آن هم کم است. بنابراین عدم وجود آنتی‌بادی (صفر) در کودکانی که با تابلوی حاد درگیری عصبی بستری می‌شوند در ۹۰٪ موارد عفونت مایکوپلاسمایی را کنار می‌گذارد در ۱۰٪ موارد غیر مبتلا که دارای آنتی‌بادی (جزیی) در مایع نخاع هستند ممکن است ناشی از ابتلا و درگیری عصبی قبلی با این عفونت باشد که همچنان در مایع نخاع باقی مانده است (مثبت کاذب). نکته مهم و قابل توجه در این مطالعه بیماران مبتلا به مننژیت و بیماران با کاهش سطح هشیاری بود که سطح آنتی‌بادی پایین‌تری داشتند در مقایسه با بیمارانی که فاقد این علایم بودند. شاید بتوان گفت که وجود این علایم عصبی کمتر به نفع عفونت مایکوپلاسمایی در بیماران است. عامل بیماری در کودکانی که با تشنج و یا کاهش سطح هشیاری بستری می‌شوند احتمالاً عفونت‌های دیگر مانند باکتری‌ها و یا ویروس‌ها هستند. این مطالعه در مقایسه با سایر مقالات به مطالعه‌ای که در کپنهاگ انجام شده مشابهت دارد. از ۲۱ بیمار مبتلا به عفونت ریوی مایکوپلاسما یک بیمار میلیت عرضی و سه مورد آنسفالیت و یک نفر پلی رادیکولیت داشتند. مانند مطالعه فعلی مننژیت دیده نشد.[۳] در مطالعات دیگری هم به نقش مایکوپلاسما در نوریت اپتیک اشاره شده است.[۴و۸] در کالیفرنیا PCR اختصاصی فقط در ۲٪ از ۱۱۱ کودک با متوسط سن ۱۱ سال مثبت بود که کاملاً مشابهت با مطالعه ما دارد.[۷] میزان آنتی‌بادی در بیماران با علایم لکالیزه عصبی و تشنج و گیلن باره مختصری بالاتر از بیماران بدون این علایم بود. با توجه به کم بودن تعداد بیماران علیرغم نداشتن تفاوت معنی‌دار شاید با افزایش تعداد بیماران در مطالعات بعدی بتوان به ارتباط این علایم عصبی با مایکوپلاسما رسید. در مطالعه فرانسوی Trouillier طی همه‌گیری مایکوپلاسما ۸/۳٪ آنسفالیت‌ها (در ۴۸ کودک) ناشی از مایکوپلاسما بود. علت بالاتر بودن آمار در آن مطالعه به‌علت وقوع اپیدمی مایکوپلاسماست. فقط یک کودک از ابتدا تشنج داشت. نتیجه‌گیری کردند که اگر بررسی از نظر سایر عفونت‌ها منفی بود مایکوپلاسما می‌تواند عامل منگوآنسفالیت باشد.[۱۰] در دهلی‌نو عوارض عصبی در ۷٪ بیماران (شامل آنسفالیت، مننژیت آسپتیک، پلی رادیکولیت، آتاکسی سربلیت و میلیت از عوارض عصبی متعاقب عفونت تنفسی با مایکوپلاسما دیده شد.[۱۱] نتایج مطالعه Candler بسیار مشابه مطالعه فعلی است.[۹] سه مورد عوارض عصبی بعد از عفونت مایکوپلاسما گزارش کرد که شامل آنسفالوپاتی دو مورد، نوریت اپتیک یک مورد و میلیت عرضی هم در یک بیمار بود. در آن مطالعه مشابه ما para-infectious immune-mediated process در پاتوژنز بیماری مطرح شد تا تهاجم پارانشیم توسط ارگانیسم parenchymal invasion by the microorganism تشخیص، درمان و پیش‌آگهی آنسفالیت مایکوپلاسمایی در ۵۸ کودک با متوسط سن ۱۰ سال در اتریش نشان داد ۷۶٪ بیماران علایم مشابه سرما خوردگی قبل از شروع علایم عصبی داشتند. ۴۰٪ با انفیلتراسیون ریوی همراه بودند. پلئوسیتوز مایع نخاع (تک‌هسته‌ای) و افزایش پروتیین مایع نخاع در ۵۹٪ و ۳۶٪ موارد وجود داشت. اختلالات CT scan /MRI در ۳۱٪ و ۱۷٪ مشاهده شد. ۷۶٪ بیماران آنتی بیوتیک اختصاصی مایکوپلاسما دریافت و ۵۷٪ بیماران بدون عارضه بهبود یافتند. ۳۴٪ عوارض خفیف عصبی داشتند. ۹٪ بیماران فوت کردند. بدترین پیش‌آگهی در بیمارانی دیده شد که پروتیین بالای مایع نخاع، سلول بیشتر و سن بالاتر داشتند[۱۲] در ژاپن افزایش انترلوکین شش و هشت در چهار مورد مایع نخاع مبتلایان به آنسفالیت نوع ابتدایی دیده شد و در نوع تاخیری آنسفالیت انترلوکین ۱۸ افزایش داشت. در هیچ مورد افزایش انترفرون گاما و تومور نکروتایزینگ فاکتور و فاکتور رشد بتا دیده نشد. احتمالاً در ایجاد عوارض عصبی مایکوپلاسما این سایتوکاین‌ها interleukin-6, interleukin-8, and interleukin-18 دخالت دارند.[۱۳] مطالعه در بیماران گیلن باره با مایکوپلاسما نشان داد آنتی‌بادی بر علیه گالاکتوسربروزید تولید می‌شود.[۱۴] در بسیاری از مطالعات افتراق پدیده ناشی از عفونت را از موارد متعاقب عفونت مایکوپلاسمایی جهت شروع آنتی‌بیوتیک و یا درمان ایمونومدولاتور تعیین‌کننده می‌دانند[۱۵] ایمنی هومورال و سلولی در کودکان هلندی مبتلا به مایکوپلاسما یک سال بعد از عفونت مایکوپلاسمایی مشاهده شد.[۱۶] پردنیزولون در عوارض عصبی مایکوپلاسما مانند آنسفالیت، میلیت عرضی و آتاکسی مخچه‌ای و ساقه مغزی و نوروپاتی محیطی و پلی‌میوزیت‌ها موثر بوده و بهبودی را تسریع می‌کند.[۱۹و۲۰] Carpenter گزارش کرد با قطع کورتیکوستروییید در درمان آنسفالیت حاد مایکوپلاسمایی عود علایم و بهبود مجدد با شروع درمان دیده می‌شود. قطع تدریجی دارو باید در زمان طولانی–تری انجام شود.[۲۰]

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-29]

افتراق مایکوپلاسما از سایر علل عفونی احتمالی مانند هرپس ویروس‌ها تنها بر اساس علایم بالینی ممکن نیست و نیاز به اقدامات تشخیصی تخصصی دارد مقادیر بسیار اندک (۰/۰۰۲۶) آنتی‌بادی اختصاصی بر علیه مایکوپلاسما در مایع نخاع در کودکان بستری با تب و درگیری حاد سیستم عصبی، می‌تواند به نفع عوارض عصبی ناشی از مایکوپلاسما باشد (حساسیت ۷۳٪ و ویژگی ۹۰٪). عدم وجود آنتی‌بادی در مایع نخاع قویا (۹۰٪) دال بر عدم ابتلا به مایکوپلاسما است. بهتر است در بیمارانی که مایع نخاع برای سایر تست‌ها (هرپس ویروس‌ها) منفی است مایکوپلاسما را به‌عنوان عامل احتمالی درگیری سیستم عصبی به‌خصوص در موارد آندمیک و در بیماران با سابقه عفونت تنفسی در نظر داشته باشیم. کودکانی که تب همراه با منتژیت و کاهش سطح هشیاری باشد احتمال مایکوپلاسما بسیار ضعیف است. اما در موارد گیلن باره و یا وجود علایم عصبی لوکالیزه به‌خصوص نوریت اپتیک و یا تشنج احتمال مایکوپلاسما بیشتر است. در ۲۸٪ کودکان با تابلوی تب و علایم عصبی علیرغم نقش این عفونت ممکن است آنتی‌بادی موضعی تولید نشود و یا وجود نداشته باشد (منفی کاذب). عدم وجود آنتی‌بادی (صفر) در کودکان بستری با تابلوی حاد درگیری عصبی، در ۹۰٪ موارد عفونت مایکوپلاسمایی را کنار می‌گذارد. در ۱۰٪ موارد غیر مبتلا که دارای آنتی‌بادی (جزیی) در مایع نخاع هستند ممکن است ناشی از ابتلا و درگیری عصبی قبلی با این عفونت باشد که همچنان در مایع نخاع باقی مانده است (مثبت کاذب)، که نیازمند تست‌های تکمیلی است.

References

1. Waites KB, Talkington DF. Mycoplasma pneumoniae and its role as a human pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2004;17(4):697-728, table of contents.
2. Garnier JM, Noël G, Retornaz K, Blanc P, Minodier P. Extrapulmonary infections due to Mycoplasma pneumoniae. *Arch Pediatr* 2005;12 Suppl 1:S2-6.
3. Bjorn AM, Lebech AM. Extrapulmonary complications of Mycoplasma pneumoniae infections. *Ugeskr Laeger* 2002;164(13):1805-9.
4. Sagui E, Chazalon E, Bregigeon M, Oliver M, Brosset C. Optic neuritis attributable to Mycoplasma pneumoniae. *Rev Neurol (Paris)* 2007;163(11):1103-5.
5. Sotgiu S, Pugliatti M, Rosati G, Deiana GA, Sechi GP. Neurological disorders associated with Mycoplasma pneumoniae infection. *Eur J Neurol* 2003;10(2):165-8.
6. Pavone P, Rotolo N, La Rosa M. Stroke in two children with Mycoplasma pneumoniae infection. A causal or casual relationship? *Pediatr Infect Dis J* 2005;24(9):843-5.
7. Christie LJ, Honarmand S, Talkington DF, Gavali SS, Preas C, Pan CY, et al. Pediatric encephalitis: what is the role of Mycoplasma pneumoniae? *Pediatrics* 2007;120(2):305-13.
8. Termote B, Demaerel P, Wilms G, Dubois B. Encephalitis following Mycoplasma pneumonia (2007: 6b). Acute disseminated encephalomyelitis. *Eur Radiol* 2007;17(9):2436-8.
9. Candler PM, Dale RC. Three cases of central nervous system complications associated with Mycoplasma pneumoniae. *Pediatr Neurol* 2004;31(2):133-8.
10. Trouillier S, Dionet E, Bocquier B, Constantin JM, Guelon D, Bonnet R, et al. Should presumptive meningoencephalitis treatment in adults be active against Mycoplasma pneumoniae? *Med Mal Infect* 2007;37(11):738-45.
11. Guleria R, Nisar N, Chawla TC, Biswas NR. Mycoplasma pneumoniae and central nervous system complications: a review. *J Lab Clin Med* 2005;146(2):55-63.
12. Daxboeck F, Blacky A, Seidl R, Krause R, Assadian O. Diagnosis, treatment, and prognosis of Mycoplasma pneumoniae childhood encephalitis: systematic review of 58 cases. *J Child Neurol* 2004;19(11):865-71.
13. Narita M, Tanaka H, Togashi T, Abe S. Cytokines involved in CNS manifestations caused by Mycoplasma pneumoniae. *Pediatr Neurol* 2005;33(2):105-9.
14. Susuki K, Odaka M, Mori M, Hirata K, Yuki N. Acute motor axonal neuropathy after Mycoplasma infection: Evidence of molecular mimicry. *Neurology* 2004;62(6):949-56.
15. Tsiodras S, Kelesidis I, Kelesidis T, Stamboulis E, Giamarellou H. Central nervous system manifestations of Mycoplasma pneumoniae infections. *J Infect* 2005;51(5):343-54.
16. Stelmach I, Podsiadłowicz-Borzecka M, Grzelewski T, Majak P, Stelmach W, Jerzyńska J, et al. Humoral and cellular immunity in children with Mycoplasma pneumoniae infection: a 1-year prospective study. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005;12(10):1246-50.
17. Loens K, Ursi D, Goossens H, Ieven M. Molecular diagnosis of Mycoplasma pneumoniae respiratory tract infections. *J Clin Microbiol* 2003;41(11):4915-23.
18. Nilsson AC, Björkman P, Persson K. Polymerase chain reaction is superior to serology for the diagnosis of acute Mycoplasma pneumoniae infection and reveals a high rate of persistent infection. *BMC Microbiol* 2008;8:93.
19. Gucuyener K, Simsek F, Yilmaz O.Methyl-prednisolone in neurologic complications Mycoplasma pneumonia. of Mycoplasma pneumonia Indian J Pediatr 2000 Jun; 67(6):467-9
20. Carpenter TC. Corticosteroids in the treatment of severe mycoplasma encephalitis in children. *Crit Care Med* 2002;30(4):925-7.
21. Noorbakhsh S, Tabatabaei A, Parvaresh M, Tonekaboni H. Determination of CMV infection in CSF of children with meningoencephalitis: PCR method. *TUMJ* 2009;66(10):734-9.
22. Khosroushahi N, Kamrani K, Mahvelati Shamsabadi F, Ghofrani M. Disseminated encephalomyelitis in childhood; epidemiologic, clinical, and laboratory features. *Ijms* 2007;32(3):143-6.
23. Noorbakhsh S, Ashtiani F, Rimaz S, Bakhshayesh M. Mumps meningoencephalitis in pediatric ward of Rasool Akram hospital in Tehran, Iran, 1999-2000. *J Islamic Repub of Iran* 2004;18(2):123-8.
24. Samile N, Hassan T. Acute disseminated encephalomyelitis in children. A descriptive study in Tehran, Iran. *Saudi Med J* 2007;28(3):396-9.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-29]

Tehran University Medical Journal; Vol. 68, No. 5, Aug 2010: 274-280

Detection of *Mycoplasma pneumoniae* in cerebrospinal fluid of children: Quantification of CSF-IgG antibody

Samileh Noorbakhsh MD.[1*]
Mehdi Shekarabi PhD.[2]
Zohre Kalbasi MD.[3]
Azardokht Tabatabaei Ms.[4]
Hassan Tonekaboni MD.[5]
Ladan Afsharkhas MD.[6]
Mohammad Vafaei-shahi MD.[3]

1- Department of Pediatric Infectious Diseases
2- Department of Immunology
3- Department of Pediatrics, Iran University of Medical Sciences
4- Ms. of Microbiology

Research Center of Pediatric Infectious Diseases, Iran University of Medical Sciences

5- Department of Pediatric Neurology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Mofid Hospital
6- Department of Pediatric Neurology, Iran university of Medical Sciences

Tehran, Iran

[*] Corresponding author: Research Center of Pediatric Infectious Diseases, 4th floor, Rasoul Hospital, Nyayesh Ave., Satarkhan St., Tehran, Iran
Tel: +98-21-66525328
email: samileh_noorbakhsh@yahoo.com

Received: February 27, 2010 Accepted: May 29, 2010

Abstract

Background: *M. pneumoniae* infection in children is usual and diagnosis of its neurologic complications for rapid treatment is very important. To compare the CSF-*M. pneumoniae* antibody level between febrile children with acute neurologic signs (Menigoencephalitis, Guillan Barre Syndrome (GBS), Transverse myelitis, Ataxia and so on) with unaffected ones.

Methods: A cross sectional/ case control study in pediatric wards of Rasoul-e-Akram & Mofid hospitals (2007-2009) was done. The amount of Specific *M. pneumoniae* IgG (ELISA) antibody level determined in CSF of 55 cases and in 10 controls. Chi square values (CI 95%, $p< 0.05$) calculated for all categorical variables. Sensitivity; specificity; Positive Predictive Value (PPV); Negative Predictive Value (NPV) of CSF antibody level determined by using the Area under the ROC Curve.

Results: Cases (n= 55) aged between five month to 13 years with mean age of 3.84±3.43 years. Area Under Curve (AUC) in ROC was 0.876 (%95 CI, 0.78- 0.96; $p< 0.0001$). Cut off level for antibody was 0.0025 with 73% sensitivity; 90% specificity; 100% PPV; 28.8% NPV. CSF antibody level had significant difference between cases and controls [0.08± 0.26 Versus 0.001± 0.001; p: 0.02]; It had poor agreement between cases and controls (Kappa= 0.27). Lowest amount seen in cases with aseptic meningitis; highest amount observed in cases with GBS and cases with focal neurologic signs.

Conclusion: The presence of very low amount (0.0025) of *M. pneumoniae* antibody in CSF of febrile children with acute neurologic signs had 70% sensitivity and 90% specificity; 100% PPV; but had low (28.8%) NPV. *M. pneumoniae* would be a rare cause in cases with aseptic meningitis. Finding the *M. pneumoniae*-DNAs in CSF are not so frequent (2%) but in high suspicious cases adding this test to determining the CSF antibody level might be helpful.

Keywords: *Mycoplasma pneumoniae*, antibody, IgG, ELISA, meningoencephalitis, Cerebrospinal Fluid (CSF).

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-29]