الكشف عن البكتيريا في سائل النخاع الشوكي بواسطة تقنية التفاعل التسلسلي للبوليميريز لمورث 16S- rDNA

ديمة كرم ناصرالدين · الزغير

2019-09-21

مرض السحايا البكتيري أو التهاب الدماغ الحموي هو التهاب يصيب الغشاء المبطِن لسطح الدماغ والحبل الشوكي (ويكون بسبب فيروسي أو بكتيري أو فطري في أحيان أخرى)، وإن كان الالتهاب الفيروسي يمثل العدد الأعظم من الإصابات. الأعراض تختلف من شخص لآخر، ولكن توجد بعض الأعراض المشتركة مثل صداع شديد وتصلب الرقبة. يتميز المرض بأنه ذو بدء فجائي أو تدريجي، حمى وقيء وخمول. يصاحب التهاب السحايا عند الأطفال الصغار انتفاخ اليافوخ، وتصلب الرقبة والظهر في الأطفال الأكبر عمرا، وأحيانا تحدث غيبوبة وقد تصاحبها حمى خفيفة لعدة أيام مع ظهور أعراض التهاب الجهاز العصبي المركزي.

التهاب السحايا البكتيري من الخطورة ما تجعله سبباً سريعاً للوفاة في الأشخاص الأصحاء ذوي المناعة الجيدة، ولكن في معظم الأحيان يستمر المرض من 7 –10 أيام ومن ثم يستعيد المريض صحته. ولكن التهاب السحايا البكتيرية من جهة أخرى، قد لا يمكن شفاءه من غير التدخل العلاجي وقد ينتج عنه تلف اعاقي أو وفاة. التهاب السحايا البكتيرية تعتبر أقل انتشاراً ولكنه أشد خطورة. والبكتيريا الرئيسية المسببة له هي المكورات السحائية (Neisseria Meningitis).

إلا أن هناك مسببات أخرى لا تقل أهمية مثل الهيموفلس بي Haemophilus (Influenzae) والمكورات الرئوية (Streptococcus Pneumoniae) بالإضافة إلى أنواع أخرى من البكتيريا مثل اللستيريا (Liesteria Monocytogenes) وغيرها من البكتيريا التي قد تتمكن من الوصول إلى سائل النخاع الشوكي.

يحدث المرض عادة في المجتمعات ذات المستوى الاقتصادي المتدني وفي كل الفصول، ولكن تزداد معدلات الحدوث في فصلي الشتاء والربيع ويحدث في شكل أوبئة في التجمعات المغلقة.

يتم التشخيص بالطرق التقليدية بواسطة عمل مزرعة لعزل البكتيريا من سائل النخاع الشوكي ثم فحص مجهري لشريحة مصبوغة بطريقة غرام (Gram).

وتعتبر الحالة «**مشتبهة**» لأي طفل دون الخمس سنوات ولديه أعراض الحمى الشوكية، مثل الحمى، الصداع، تصلب الرقبة، انتفاخ اليافوخ. وتعتبر «**محتملة**» لأي طفل دون الخامسة ولديه أعراض سريرية للحمى الشوكية مع سائل نخاعي شوكي معكر، وارتفاع مكونات البروتين في السائل النخاعي الشوكي (15 - 60 mg/100 ml)، ونقص في مستوى السكر في السائل النخاعي50 - 80 (mg/100 ml) عن المستوى الطبيعي المذكور، مع ارتفاع نسبة خلايا الدم البيضاء النيتروفيل (Neutrophils).

أما الحالة «**المؤكدة**» فهي للطفل الذي يقل عمره عن خمس سنوات ولديه أعراض سريرية للحمى الشوكية مع وجود البكتيريا الممرضة في مزرعة سائل النخاع الشوكي أو التعرف على الأجسام المضادة للجرثومة بواسطة اختبار الكرات لاتكس (LAT) (Latex Agglutination Test).

في هذه الدراسة تم التطرق إلى الكشف المبدئي عن وجود أي نوع من البكتيريا في سائل السحايا ثم التوصل إلى النوع البكتيري المسبب للالتهاب، وهذا كان باستخدام تفاعل البوليميريز المتسلسل المتعدد (PCR) Polymerase Chain Reaction وقد تكوّن الفحص من مرحلتين متوائمتين، يستخدم في الأولى مزيج من البادئات العامة (G7 (General Primers) Or (UM) Refereeing to The Universal Method) والتي تعمل على تضخيم قطعة من الجين (16S Ribosomal DNA) وهذه المرحلة تعتبر مهمة جداً لنفي أو إثبات وجود الالتهاب البكتيري والذي يعتبر أقل انتشارا وأشد خطورة. أما الخطوة الثانية فتعتمد على محلول من البادئات الخاصة بأنواع معينة من البكتيريا(Species Specific Primers) والتي تتسبب عادة بالتهاب السحايا البكتيرية، وقد تم تحضير هذا المحلول و اختباره كاملاً في مختبر جامعة القدس عن طريق استخدام أداة بحث الاصطفاف الأساسية (BLAST).

تم اختبار المحلول (Control) على الأصناف الأساسية من البكتيريا والتي عادة ما تسبب المرض وقد تم تطوير طريقة استخراج المادة الوراثية البكتيرية DNA (Extraction) واختبارها لعدة مرات للتأكد من قدرتها على استخراج ال (DNA) وخاصة من البكتيريا القابلة للصبغة الموجبة (Gram Positive).

تم اخضاع 129 عينة من سائل النخاع الشوكي لمرحلتي التشخيص، وقد أعطت 126 منها نتائج سلبية لمرض السحايا البكتيري خلال ساعات معدودة وهذا بحد ذاته يمثل أهمية هذه الدراسة بحيث أنها نفت و جود مرض السحايا البكتيري وبالتالي أدّت هذه النتيجة إلى عدم تعريض المريض لتعاطي المضادات الحيوية الكاملة (Broad Spectrum Antibiotics) في حال اعتماد الطريقة العادية للقيام

بالفحص. ومعلوم أن تعاطي المضادات باستمرار وبدون وجود التهاب بكتيري يؤدي إلى تشكل مقاومة للمضادات الحيوية (Resistance) لدى البكتيريا وبالتالي فقدان فاعليتها مستقبلا. هذا كله بالإضافة إلى تقليل معاناة المرضى و أيام مكوثهم في المستشفى أثناء انتظار نتائج الزراعة في حالة الاشتباه في إصابتهم بالتهاب السحايا البكتيري. أما العينات الثلاثة الباقية والتي أعطت نتائج ايجابية فكانت إحداها بسبب المكورات السحائية (Neisseria Meningitidis) والنتيجتين الأخريين أعطتا نتائج إيجابية أيضاً باستخدام الطريقة العادية و تم التعرف على تسلسل القواعد النيتروجينية لهذه القطع المضخمة باستخدام التحليل التسلسلي المباشر (Sequencing) ثم استخدام أداة بحث الاصطفاف الأساسية (BLAST).

تؤكد الدراسة على أهمية استخدام طرق التشخيص والكشف (Screening Test)عن مرض التهاب السحايا البكتيري مما له من سرعة عالية وحساسية (Sensitivity) لأقل كميات من البكتيريا، وهذا سيخفف من معاناة المرضى خاصة الأطفال منهم، كما سيخفف من حدوث مقاومة لدى البكتيريا (Resistance) للمضادات الحيوية. وسيكون لهذين الأمرين أكبر الأثر في إدارة تشخيص وعلاج المرض محلياً وعالمياً.

ملاحظة

المقالة هي ملخص باللغة العربية لأطروحة الماجستير الخاصة بالكاتبة وقد تم نشر البحث العلمي والنتائج الصادرة من هذه الاطروحة في مجلة علمية محكّمة يمكنكم الرجوع اليها عبر الرابط المرفق ويمكنكم الحصول على المراجع والمصادر من خلالها.

- http://dspace.alquds.edu/bitstream/handle/20.500.12213/947/RES_171_JOURNAL_A27AE5A24478.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- RES_171_JOURNAL_A27AE5A24478.pdf (242.7Kb)

عنوان الأطروحة باللغة الإنجليزية

- Detection of Neisseria meningitidis and unknown Gammaproteobacteria in cerebrospinal fluid using the two-step universal method

باحثة في مجال البكتيريا والغذاء – جامعة مونستر- ألمانيا
البريد الإلكتروني للكاتب: Dimak.zughayyar@gmail.com