Military Caring Sciences 10.22034/10.1.58
Volume 10, Issue 1, Winter 2023 (Serial Number: 35)
OPEN ACCESS
Original Article

# Identification of Neisseria Meningitidis Serogroups in Students Living in the Dormitory of Baqiyatullah University of Medical Sciences before and after Vaccination in 2019

Masih Abadi. M[1]
Sorori. R[2]
Ataeei. R A[3]
Mehrabi Tavana. A[3]
Sepandi. M[4]
Mahabadi. M[5]

*1- MSc in Microbiology, Medical Microbiology Department, School of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

*2- Ph.D.in Bacteriology, Medical Microbiology Department, School of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

*3- Ph.D. in Microbiology, Medical Microbiology Department, School of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

*4- Ph.D. in Epidemiology. Health Research Center, Life Style Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

*5- (*Corresponding Author) Ph.D. in Virology, Medical Microbiology Department, School of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran, Email: m_mahabadi@razi.ac.ir*

## Abstract

**Introduction**: Neisseria meningitidis is a pathogenic bacterium that settles in the nasopharynx of people. This bacterium has thirteen different serological groups, but the most common groups that play a role in causing the fatal disease of meningitis are serological groups A, B, C, W135 and Y. This disease is of special importance in the military forces and determining and identifying carriers of different serogroups is very important

**Objective**: This study was conducted to determine the number of carriers of Neisseria meningitidis serological groups using the PCR (Polymerase Chain Reaction) method in students of Baqiyatullah University of Medical Sciences before and after vaccination.

**Materials and Methods**: This cross-sectional study was conducted on the pharynx samples of 115 students of Baghiyallah University of Medical Sciences in 2019. Sampling was done by Dacron swab from the pharynx. The samples were cultured in a specific and enriching culture medium.After 24 to 48 hours of incubation, biochemical methods were used to determine the identity of the strains. Then, their serological groups were determined by PCR method.

**Results**: From 115 students, no serogroup of Neisseria Meningitidis was isolated in the stage before the double vaccination of Meningococcal Meningitis (De Vallan Meningococcal A+C).In the post-vaccination stage, two cases of Neisseria Meningitidis were detected among 68 students.

**Conclusion**: The findings of this research indicate that no serological group was observed in the throat of people before vaccination. While vaccination and when the students were in the dormitory, two cases of Neisseria Meningitidis group C were detected. The observance of health principles, especially the use of masks during the coronavirus pandemic (COVID-19), has influenced the results of this study. It is possible that under normal conditions and the non-implementation of special regulations related to Corona, the number of positive cases after the presence of students in the dormitory is more than the cases identified in this research.

**Keywords**: Carriers, Serological Group, Neisseria Meningitidis, Polymerase Chain Reaction

Masih Abadi M, Sorori R, Ataeei R A, Mehrabi Tavana A, Sepandi M, Mahabadi M. Identification of Neisseria Meningitidis Serogroups in Students Living in the Dormitory of Baqiyatullah University of Medical Sciences before and after Vaccination in 2019. Military Caring Sciences. 2023; 10 (1).58-68.
Submission: 22/01/2023 Accepted: 15/08/2023 Published: 02/10/2023

©The Author(s)
BY NC

**Publisher:** Aja University of Medical Sciences

# شناسایی سروگروپ های نایسریا مننژیتیدیس در دانشجویان ساکن خوابگاه دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) قبل و بعد از واکسیناسیون سال ۱۳۹۹

مهدی مسیح آبادی[۱]، رحیم سروری[۲]، رمضانعلی عطایی[۳]، علی مهرابی توانا[۳]، مجتبی سپندی[۴]،*مصطفی مه آبادی[۵]


## چکیده

**مقدمه:** نایسریا مننژیتیدیس باکتری بیماری‌زایی است که درنازوفارنکس افراد مستقر می‌شود. این باکتری دارای سیزده گروه سرولوژیکی مختلف بوده ولی شایع‌ترین گروه‌های دخیل در ایجاد بیماری مهلک مننژیت، گروهای سرولوژیکی A، B، C، W135 و Y می‌باشند. این بیماری در نیروهای نظامی اهمیت خاصی دارد و تعیین و شناسایی افراد ناقل گروه‌های سرمی مختلف نیز حائز اهمیت است.

**هدف:** این مطالعه با هدف تعیین میزان حاملان گروه‌های سرولوژیکی نایسریا مننژیتیدیس با استفاده از روش PCR در دانشجویان دانشگاه علوم پزشکی بقیۀالله (عج) قبل و بعد از واکسیناسیون انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه مقطعی بر روی حلق ۱۱۵ دانشجوی دانشگاه علوم پزشکی بقیۀ الله (عج) در سال ۱۳۹۹ صورت گرفت. نمونه‌گیری توسط سوآپ داکرون از ته حلق انجام شد. نمونه‌ها در محیط کشت اختصاصی و غنی کننده کشت داده شدند. پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری، جهت تعیین هویت سویه‌ها از روش‌های بیوشیمیایی استفاده شد. سپس با روش PCR (Polymerase Chain Reaction) گروه‌های سرولوژیکی آن‌ها مشخص گردید.

**یافته‌ها:** از ۱۱۵ دانشجو، در مرحله قبل از واکسیناسیون دوگانه مننژیت مننگوکوکی (دی والان مننگوکوک A+C) هیچ سروگروه سرمی نایسریا مننژیتیدیس جداسازی نشد. در مرحله بعد از واکسیناسیون از تعداد ۶۸ نفر دانشجو، دو مورد نایسریا مننژیتیدیس شناسایی شد.

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های این تحقیق حاکی از آن است که هیچ گروه سرولوژیکی در گلوی افراد قبل از واکسیناسیون مشاهده نشده است. در حالی که پس از واکسیناسیون و زمانی که دانشجویان در خوابگاه بودند، دو مورد نایسریا مننژیتیدیس گروه C شناسایی شد. شاید رعایت اصول بهداشتی به ویژه استفاده از ماسک در زمان پاندمی کرونا (کووید ۱۹) نتایج این مطالعه را تحت تأثیر قرار داده باشد. ممکن است در شرایط عادی و عدم اجرای مقررات خاص مرتبط با کرونا، تعداد موارد مثبت پس از حضور دانشجویان در خوابگاه بیشتر از موارد شناسایی شده در این تحقیق باشد.


**کلمات کلیدی:** حاملان، گروه‌های سرولوژیکی، نایسریا مننژیتیدیس، واکنش زنجیره‌ای پلی مراز

مجله علوم مراقبتی نظامی سال دهم ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۴۰۲ ■ شماره مسلسل ۳۵ ■ صفحات ۶۸ -۵۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۲۴
تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۷/۱۰

مقدمه

مننژیت مننگوکوکی یک معضل مهم بهداشتی در مناطق گرمسیری به ویژه در بخش‌هایی از آفریقا و آمریکای لاتین است. این باکتری در سال ۱۸۸۷ توسط آنتون وایکسلبام میکروب شناس اتریشی کشف شد (۱) مننژیت یک بیماری عفونی است که سبب التهاب پرده مننژ مغز می‌شود این بیماری بسیار خطرناک بوده زیرا به صورت خیلی سریع شایع می‌شود و سبب مرگ افراد به ویژه کودکان و سالمندان می‌شود. بروز این بیماری به دلیل کاهش مصونیت جمعیت، فراهم شدن شرایط انتشار عامل بیماری‌زا در فصل خشک، شب‌های سرد و تراکم جمعیت ذکر شده است، در حقیقت مننژیت مننگوکوکی در اثر تماس با مخاط یا ریز قطرات بینی و گلوی فرد آلوده گسترش می‌یابد.

۱- کارشناسی ارشد میکروب شناسی پزشکی، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیۀ الله، تهران، ایران
۲- دکترای تخصصی باکتری شناسی پزشکی، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران
۳ - دکترای تخصصی میکروب شناسی پزشکی، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران
۴ - دکترای تخصصی اپیدمیولوژی، مرکز تحقیقات بهداشت، پژوهشکده سبک زندگی، دانشگاه علوم پزشکی بقیۀ الله، تهران، ایران
۵ - دکترای تخصصی ویروس شناسی پزشکی، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران، (*نویسنده مسئول) آدرس الکترونیک: m_mahabadi@razi.ac.ir

بسیاری از افراد بدون وجود علائم بیماری باکتری‌ها را در بینی و گلوی خود حمل می‌کنند باشد. اپیدمی‌های گسترده مننژیت مننگوکوکی در حوزه کمربند اپیدمی یعنی آفریقا از کشور سنگال در غرب و اتیوپی در شرق را شامل می‌شود. اپیدمی‌های گسترده این بیماری امروزه در جهان به ویژه در اروپا با سروگروپ B در نوزادان و در کشورهای دیگر ناقلین سالم نایسریا مننژیتیدیس در افراد بالغ شایع می‌باشد (۲، ۳). ۲۵۰۰ تا ۳۵۰۰ مورد از مننژیت مننگوکوکی هر سال در ایالات متحده آمریکا اتفاق می‌افتد. کودکان زیر ۵ سال، نوجوانان دبیرستانی، ساکنین خوابگاه‌ها و پانسیون‌ها از افراد پرخطر هستند. . با توجه به واکسیناسیون مناسب در جهان شیوع این بیماری به شدت رو به کاهش است. میزان شیوع مننژیت در ساکنین صحرای آفریقا از یک مورد در هر ۱۰۰ نفر به یک مورد در هر ۱۰۰۰نفر رسیده است (۴).

مننژیت در اثر میکروب‌های متعددی مانند Sterptococcus Pneumonia, Hemophilis Influenzae و به ویژه Neisseria Meningitidis ایجاد می‌شود. امروزه بیش از ۱۲ سروگروپ از نایسریا مننژیتیدیس شناسایی شده است که سروگروپ های (A, B, C, W135, X, Y) قابلیت اپیدمی را دارا می‌باشند (۵). این باکتری یکی از عوامل اصلی ایجاد مننژیت و سپتی سمی است. مننژیت مننگوکوکی می‌تواند به صورت تهاجمی سبب سپتی سمی و آرتریت شود میکروب N.meningitidis هر گروه سنی و جنسی را تحت تأثیر قرار می‌دهد هر چند بیشتر در کودکان به ویژه در نوزادان و کودکان پیش دبستانی و جوانان دیده می‌شود.. مننژیت در اطفال اغلب توسط گروه‌های سرمی B و C و پنومونی توسط گروهای سرولوژیکی Y و W135 ایجاد می‌شود. در حالی که در جوانان، میانسالان و افراد مسن گروه‌های سرولوژیکی A، B، C، W135، X، E29 و Y به عنوان عوامل شایع مننژیت مننگوکوکی گزارش‌شده است (۶) میکروب N.Meningitidis باعث مننژیت مننگوکوکی می‌شود که قابلیت ایجاد بیماری به خصوص در مکان‌های پر ازدحام مانند سربازخانه‌ها، مدارس، آسایشگاه سالمندان و مراکز مشابه را دارد. تجمع نیروهای نظامی در مناطق مختلف جغرافیایی آن‌ها را در معرض خطر شیوع نایسریا مننژیتیدیس (Neisseria Meningitidis) قرار می‌دهد (۷). در سال‌های اول جنگ تحمیلی شیوع مننژیت مننگوکوکی در نیروهای نظامی نگران کننده بود ولی با ورود واکسن دوگانه مننژیت مننگوکوکی (Meningococcal Meningitis) و انجام واکسیناسیون، بیماری تحت کنترل قرار گرفت و تعداد ابتلا به شدت کاهش یافت. در ایران مطالعات انجام شده مؤید این بوده است که بیماری مننژیت در بین سربازان شیوع داشته است تزریق به موقع واکسن به ویژه واکسن دوگانه (A+C) تا حدود زیادی در افراد سرباز ایمنی حاصل شده و آنان با واکسیناسیون از این بیماری خطرناک محافظت شده‌اند با این حال، گزارش‌های موردی از این بیماری در پادگان‌ها و مراکز نظامی، ضرورت بررسی این بیماری را در این مراکز اجتناب ناپذیر می‌کند. به همین منظور در سال ۱۳۸۴-۱۳۸۳ تحقیق جامعی به منظور تعیین سروگروه‌های مسئول مننژیت مننگوکوکی در سطح نیروهای نظامی طراحی و انجام شد (۸).

هرچند، داده‌های اپیدمیولوژی مننژیت مننگوکوکی در آسیا به طور دقیق مشخص نیست. با این حال، گروه‌های سرمی غالب در این منطقه A و C است (۹). نتایج نشان داد که کارکنان نظامی نسبت به جمعیت غیرنظامی بیشتر در معرض ابتلا به بیماری مننگوکوکی می‌باشند، گزارش‌ها میزان بروز بیماری مننگوکوکی را در نظامیان ۴ تا ۱۰ برابر افراد غیرنظامی ذکر کرده‌اند (۱۰، ۱۱ ). در مطالعه متا آنالیز اطلاعات مربوط به موارد مننژیت در سنین ۱ تا ۱۱۰ سال از سیستم کنترل ملی بیماری‌های قابل تشخیص از مارس ۲۰۰۸ تا دسامبر ۲۰۱۴ در ایران استخراج گردید. تعداد ۴۸۰۰۶ مورد مننژیت مشکوک شناسایی شده و ۱۴۶۸ مورد معیارهای مننژیت را تائید کرده‌اند. مردان در کل بیشتر از زنان (۵۸/۵۱ درصد در مقابل ۳۳/۸۱ درصد) مبتلا بودند. بیشتر افراد آلوده کودکان زیر پنج سال بودند در دو دهه گذشته تقریباً فراوانی شیوع بیماری مذکور در بین نظامیان و سربازان ایران به صفر کاهش یافته است لکن بعضاً بیماری مننژیت با منشأ (استر پتو کوک پنومونیه) در افراد بالای ۵۵ سال کم و بیش گزارش می‌شود (۱۲)

با توجه به اهمیت این بیماری در نیروهای نظامی، پایش دوره‌ای میزان ناقلین نایسریا مننژیتیدیس می‌تواند وضعیت این بیماری را در نیروهای نظامی مشخص نماید و ضرورت تغییرات احتمالی واکسن را نیز نشان دهد. نظر به اینکه نظامیان از گروه‌های در معرض خطر هستند و ممکن است بیماری در آن‌ها به صورت اپیدمی ظاهر شود این مطالعه طراحی شده است که وضعیت

ناقلین سروگروپ های غالب شناسایی شود . لذا، هدف از انجام این تحقیق شناسایی سروگروپ های A,B,C.W135,Y نایسریا مننژیتیدیس در دانشجویان نظامی ورودی این دانشگاه قبل و بعد از واکسیناسیون مننژیت است.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه تحلیلی - مقطعی در سال ۱۳۹۹ تا ۱۴۰۱ بر روی ۱۱۵ نمونه حلق دانشجویان دانشگاه بقیه‌الله انجام شد. معیارهای ورود به مطالعه عدم تزریق واکسن مننژیت و عدم انجام مسافرت خارجی و معیارهای خروج از مطالعه، مصرف آنتی‌بیوتیک طی ۱۰ روز گذشته بود. قبل از نمونه‌گیری برای دانشجویان پرسشنامه شامل (مشخصات فردی، سابقه بیماری، مصرف آنتی‌بیوتیک، سابقه تزریق واکسن مننگوکوکی و غیره) تکمیل گردید. افرادی که با معیارهای مربوطه مطابقت نداشتند وارد مطالعه نشدند. در مرحله اول نمونه‌گیری، از دانشجویان جدید، به طور جداگانه نمونه برداری از حلق و کشت نمونه انجام شد. در مرحله دوم بعد از شش ماه از تزریق واکسن مننزیت مننگوکوکی نمونه‌گیری با توجه به شرایط کرونایی و غیرحضوری شدن دانشگاه و در دسترس نبودن دانشجویان، از ۶۸ نفر از دانشجویان انجام شد و هیچ کدام از این دانشجویان در زمان نمونه‌گیری مبتلا به کرونا نبودند.

## کشت و جداسازی نمونه‌ها

به منظور کشت و جداسازی نایسریا مننژیتیدیس از محیط کشت تایر مارتین (Tire Martin) حاوی آنتی‌بیوتیک‌های ۷/۵ میلی‌گرم Colisitin؛ ۵ میلی‌گرم Trimethoprim؛ ۳ میلی‌گرم Vancomycin و ۱۲۵۰۰ واحد Nystatin به ازای هر لیتر، شکلات آگار (Chocolate Agar) حاوی غلظت ۱/۵۰۰۰۰ میلی‌گرم کریستال ویوله (Crystal Violet)، بلاد آگار (Blood Agar)، برین هارت اینفیوژن آگار (Brain Heart Infusion Agar (BHI)) و برین هارت اینفیوژن براث (Brain Heart Infusion Broth) استفاده شد. از هر فرد دو نمونه سوآپ اخذ و بلافاصله، یکی از سوآپ ها داخل محیط کشت مایع و سوآپ دیگر جهت تلقیح در محیط‌های کشت جامد مورد استفاده قرار گرفت. یک سری از محیط‌ها در داخل جار شمع دار حاوی ۳-۵ درصد $CO_2$ در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و سری دوم محیط‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند. بعد از ۲۴ تا ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری از همه کلونی‌ها به طور جداگانه گسترش تهیه شد و رنگ‌آمیزی گرم انجام شد. از کلونی‌های مشکوک به نایسریا کشت خالص تهیه گردید. بعد از تائید نهایی آزمون‌های بیوشیمیایی شامل: اکسیداز، کاتالاز، کشت روی محیط DNAase و محیط CTA آگار (حاوی ۱ درصد قندهای گلوکز، مالتوز، لاکتوز و ساکاروز) نایسریا های پاتوژن و غیرپاتوژن با استفاده از گالری آزمودن، شناسایی نایسریا مننژ یتیدیس انجام شد. نمونه‌هایی که با آزمون‌های بیوشیمیایی نایسریا مننژیتیدیس تشخیص داده شدند در تیوپ‌های استریل حاوی محیط برین هارت اینفیوژن براث (BHI) و به نسبت ۱۰ درصد گلیسرول افزوده و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد جهت مراحل بعدی نگهداری شدند.

صرف نظر از گروه سرولوژیکی، تمامی سویه‌هایی که با آزمون‌های بیوشیمیایی شناسایی شدند با روش PCR با پرایمر عمومی جنس نایسریا (Neisseria sp Strain ZJ106 16s Ribosomal RNA Gene) و نیز پرایمر اختصاصی برای ژن ctrA به عنوان گونه نایسریا مننژیدیتیس مورد بررسی قرار گرفتند. استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA (شرکت تکاپو زیست) طبق دستورالعمل کارخانه سازنده انجام شد. تمامی پرایمرهای عمومی و اختصاصی نایسریا مننژیدیتیس و مواد مورد نیاز PCR از شرکت پیشگام تهیه شد (جدول ۱). همچنین جهت تعیین گروه‌های سرو لوژیکی به روش PCR مخلوط واکنش با حجم نهایی ۲۵ میکرو لیتر آماده شد.

داده‌های به دست آمده بعد از وارد شدن در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آمار توصیفی (شامل میانگین و انحراف معیار و فراوانی) و آمار استنباطی شامل آزمون‌های دقیق کولموگروف - اسمیرنوف و فیشر با سطح معنی‌دار ۰/۰۵ استفاده شد و با کد مصوبه اخلاق به شماره IR.BMSU.REC.۱۳۹۹.۴۰۷ ثبت شده است.

## یافته‌ها

در این مطالعه ۱۱۵ نفر از دانشجویان ورودی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) قبل از واکسیناسیون علیه مننژیت مننگوکوکی وارد مطالعه شدند. محدود سنی افراد ۱۸ -۲۳ سال بود ۴ نفر از افراد شرکت کننده دختر و مابقی پسر بودند. ۹۸/۵۳ درصد دانشجویان

**جدول ۱-پرایمر های مورد استفاده برای شناسایی سروتیپ های هدف ( از مقاله استفاده شده است) (۱۳)**

| Targeted Gene | GenBank accession no. | Amplicon size (bp) | Targeted serogroup | Sequence of primer pairs (53) F/R | TM(0C) F/R |
|---|---|---|---|---|---|
| ctrA | GU391296 | 257 | All | GTCGCGGTGATGTGGTTA/ AATCTCTGCCTCACTGCCAT | 59/56 |
| | OL504513.1 | 754 | | ATGCTTTACACATGCAAG/ AGGGTATCTAATCCTGTTTG | 58/57 |
| sacD | NC_003116 | 470 | A | TTTTATTCTTAGATGTTGACGTTTT/ ATGCCAGAAATGTTT AGGAGTT | 57/65 |
| siaD | NC_003112 | 555 | B | TTTTTAGCATATTCAGGAAAGG/ TTCAATGTGGTTGACAAC ATCT | 56/57 |
| siaD | NC_008767 | 381 | C | TGTGCTAATCCCGCCTGA/ AGAAAGCCGGGAATCGTT | 56/54 |
| synG | EU038215 | 520 | W/Y | AAGGTGAATCTTCCGAGCAG/ CCATTGGAAATTTTCGCTT | 58/58 |
| synG | EU038216 | 476 | W135 | ACGGTATCTGATGAAATGCTG/ TCATATACAACGATTGG AATATC | 58/58 |

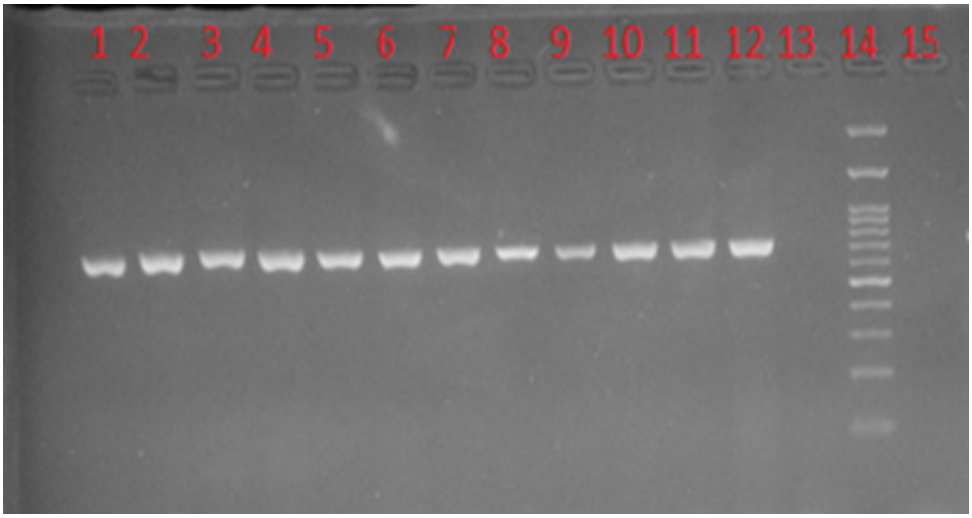
**جدول ۲- آنالیز بیوانفورماتیک نتایج سکانس محصولات PCR نمونه دانشجویان مرحله قبل از واکسیناسیون**

| ردیف | کد تموته | کد سکانس نمونه (شرکت کدون) | نتیجه سکانس نمونه‌ها (آنالیز توسط نرم افزار کروماس وبلاست سکاتس نمونه‌ها) |
|---|---|---|---|
| ۱ | ۴۴ | ->21-102506-1-Neiseria-Forward | Neisseria mucosa strain FDAARGOS_758 |
| ۲ | ۵۰ | - >70-106705-2-Neiseria-Forward | 99.23%= Neisseria mucosa strain FDAARGOS_758 chromosome |
| ۳ | ۳۷ | 3-64-1122-106706-RE-3-Neiseria-Forward | 99/05%=Neisseria perflava strain KCOM 3060 |
| ۴ | ۸۶ | 4->68-106707-4-Neiseria-Forward | 97.6%= Neisseria perflava strain KCOM 3059 (=ChDC 32Tf) 16S ribosomal RNA gene |
| ۵ | ۹۲ | 5-65-1122-106708-RE-5-Neiseria-Forward | 98/50%= Neisseria mucosa strain ATCC 19696 chromosome, complete genome |
| ۶ | ۷ | 6->66-106709-6-Neiseria-Forward | 88.51%= Neisseria sicca clone PN042 16S ribosomal RNA gene |
| ۷ | ۴ | 7-65-106710-7-Neiseria-Forward | 98.50%= Neisseria perflava gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: NSU-per_25 |
| ۸ | ۲۴ | 8-66-1122-106712-RE-8-Neiseria-Forward | 100%=Neisseria subflava partial 16S rRNA gene, isolate |
| ۹ | ۱۱۰ | -67-1122-106713-RE-9-Neiseria-Forward | 99/30%= Neisseria subflava strain Melo19TG 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| ۱۰ | ۱۰۳ | 10-62-106714-10-Neiseria-Forward | ۹۹/01%=Neisseria perflava strain A-24.1 16S ribosomal RNA gene, partial |
| ۱۱ | ۶۷ | 11-69-1122-1 06715-RE-Neiseria-Forward | 100%=Neisseria subflava partial 16S rRNA gene, isolate 497N_12171 |
| ۱۲ | سوش استاندارد | 12->20-102505-12-Neiseria-Forward | 100%=Neisseria meningitidis strain NCTC10026 |

ساکن خوابگاه دانشگاه علوم پزشکی بقیةالله (عج) شرکت کننده در پژوهش پسر بودند. ۷۳/۶ درصد دانشجویان ساکن خوابگاه دانشگاه علوم پزشکی بقیة الله (عج) شرکت کننده در پژوهش حاضر بین ۱۹-۱۸ سال سن داشتند. میانگین و انحراف معیار سن در نمونه‌های مورد پژوهش ۱/۱۱±۱۸/۸۸ سال بود. ۵۵/۹ درصد دانشجویان ساکن خوابگاه دانشگاه علوم پزشکی بقیة الله (عج) شرکت کننده در پژوهش از رشته‌ی پزشکی بودند. از نمونه‌های حلق ۱۱۵ نفر دانشجوی شرکت‌کننده در مرحله اول (قبل واکسیناسیون) باکتری مننگوکوک شناسایی نشد ولی از تعدادی نمونه‌های حلق دانشجویان در مرحله دوم (بعد واکسیناسیون) باکتری مننگوکوک شناسایی شد و بررسی‌های آماری لازم روی این نتایج انجام شد.

نتایج به دست آمده در مرحله اول تعداد ۱۱ نمونه که از نظر آزمون‌های بیوشیمیایی به عنوان نایسریا مورد تائید قرار گرفتند همچنین، در واکنش PCR با پرایمر عمومی نایسریا، قطعه‌ای با اندازه ۷۵۴ جفت باز تکثیر شد (تصویر ۱). محصول PCR نمونه‌ها جهت تعیین سکانس به شرکت گروه ژنتیک کدون فرستاده شد. نتایج تعیین سکانس محصول PCR نمونه‌ها در جدول شماره ۲ ارائه شده است.

نتایج حاصل نشان داد تعداد ۱۱ نمونه جدا شده همگی نایسریای ساپروفیت شامل: سه مورد ناقل Neisseria mucosa، چهار مورد نایسریا Neisseria Perflava، سه مورد نایسریا Neisseria Subflava و یک مورد نایسریا Neisseria Sica بودند. در این مرحله هیچ کدام از نمونه‌ها به عنوان حامل نایسریا مننژیتیدیس شناسایی نشد.




**تصویر ۱- نتایج حاصل از PCR نمونه‌های نایسریای جداشده از گلوی دانشجویان قبل واکسیناسیون**

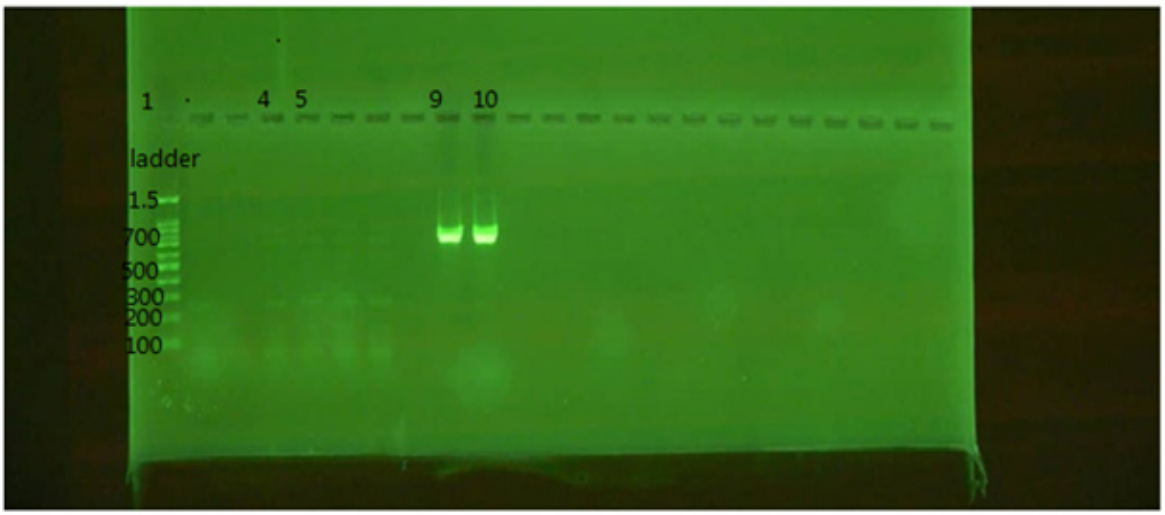
نمونه‌ها از چاهک ۱ تا ۱۱ که تشکیل باند ۷۵۴ bp نشان داده بود. چاهک ۱۲ نمونه رفرانس نایسریا ATCC (13090) همچنین چاهک ۱۵ کنترل منفی از ژنوم E coli و چاهک ۱۳ کنترل منفی دوم ژنوم S.aures چاهک ۱۴ لدر یا راهنمای وزن مولکولی بود.

جهت تعیین حساسیت PCR از یک سویه نایسریا مننژیتیدیس که از کلکسیون صنعتی ایران تهیه شده بود استفاده گردید.

تصویر شماره ۲؛ الکتروفورز محصول PCR سویه کنترل مثبت باکتری نایسریا مننژیتیدیس Neisseria meningitidisATCC (13090) و PTCC (1760) را نشان داده است.

در تصویر۲ چاهک ۱- لدر DNA 100bp ' چاهک ۹ و ۱۰ سویه نایسریا ATCC13090 (سروگروه B) که با پرایمر عمومی ۷۵۴bp تشکیل باند داده است.

نتایج نمونه‌گیری و کشت نمونه‌ها بعد از واکسیناسیون، از تعداد ۶۸ نفر از دانشجویان که ۶۷ نفر از آن‌ها پسر و ۱ نفر دختر بودند؛ و به روش فوق کشت داده شد همانند مرحله اول کشت باکتری انجام شد. سپس کلونی‌های مشکوک به نایسریا مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌های جدا شده جهت انجام PCR با پرایمر عمومی نایسریا مننژیتیدیس و پرایمرهای اختصاصی مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج حاصله نشان داد از ۱۰ نمونه جدا شده فقط دو مورد ناقل نایسریا مننژیتیدیس Neisseria Meningitidis



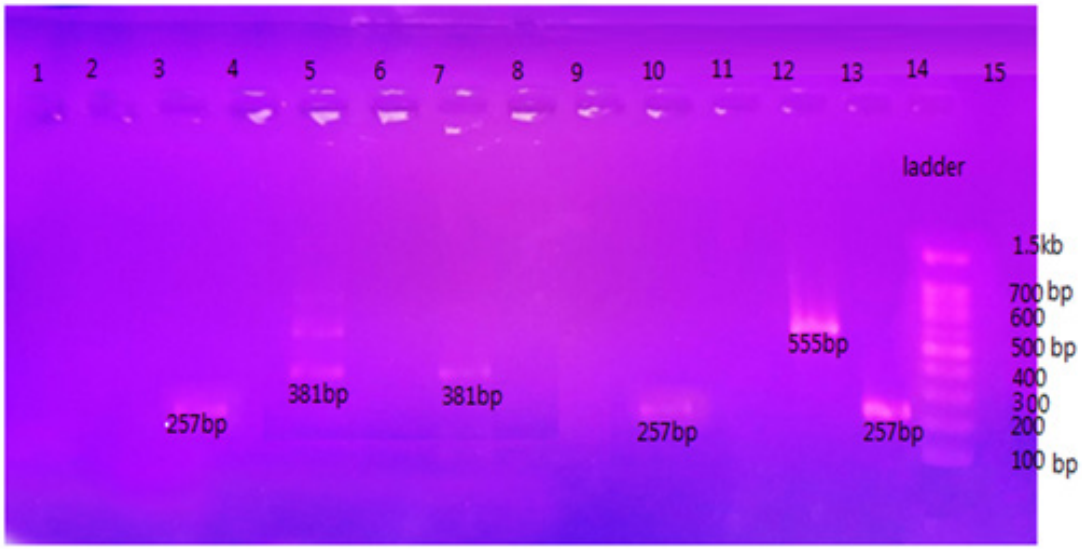

**تصویر ۲- الکتروفورز محصول PCR، جهت شناسایی سروتیپ نایسریا مننژیتیدیس سروگروپ B (سویه استاندارد).**

Serogroup C حاصل گردید (جدول ۳) و (تصویر ۳) بودند.

**جدول ۳- گالری آزمون‌های بیوشیمیایی و PCR سویه استاندارد و نمونه‌های مثبت دانشجویان**

| کد نمونه | آزمودن اکسیداز | CTA گلوکز | CTA مالتوز | PCR نتیجه | تشخیص نهایی |
|---|---|---|---|---|---|
| **سوش استاندارد ATCC13090** | + | + | + | + | نایسریا مننژیتیدیس سروگروپ B |
| **کد نمونه ۳۹** | + | + | + | + | نایسریا مننژیتیدیس سروگروپ C |
| **کد نمونه ۵۹** | + | + | + | + | نایسریا مننژیتیدیس سروگروپ C |

در تصویر۳، چاهک ۱۴ لدر ۱۰۰bp، چاهک ۱۳ سویه استاندارد (ATCC13090) با پرایمر عمومی تشکیل باند ۲۵۷ bp، چاهک ۱۲ سویه استاندارد (ATCC13090) با پرایمر اختصاصی سروگروپ B تشکیل باند ۵۵۵bp چاهک‌های ۳ و ۱۰ نمونه جدا شده از دانشجویان با پرایمر عمومی و تشکیل باند bp ۲۵۷، چاهک‌های ۵ و ۷ با پرایمر اختصاصی سروگروپ C و تشکیل باند ۳۸۱ bp چاهک ۱۵ نمونه کنترل منفی Ecoli بقیه چاهک‌ها نمونه دانشجویان که با پرایمرهای اختصاصی گروه‌های




**تصویر ۳: الکتروفوز نمونه سویه استاندارد و نمونه‌های نایسریا مننژیتیدیس گروه سرمی C جداشده از دانشجویان بعد واکسیناسیون**

**جدول ۵- میزان حاملان مننگوکوک برحسب ابتلا به بیماری زمینه‌ای (دیابت) در دانشجویان ساکن خوابگاه دانشگاه علوم پزشکی بقیۀالله (عج)**

| نوع | حامل نیست | | حامل است | |
|---|---|---|---|---|
| ابتلا به بیماری زمینه‌ای | تعداد | درصد | تعداد | درصد |
| بله | ۱ | ۱/۵ | ۰ | ۰ |
| خیر | ۶۵ | ۹۸/۵ | ۲ | ۱۰۰ |
| کل | ۶۶ | ۱۰۰ | ۲ | ۱۰۰ |
| معناداری | *Pvalue: ۱/۰۰ | | | |

*آزمون دقیق فیشر (df=۱)

A,B,W135,Y تشکیل باند نداده است.

با توجه به مثبت شـــدن نایسریا مننزیتیدیس (حامل مننگوکوک) با ابتلا به بیماری زمینه‌ای (دیابت) ارتباط معنی‌داری (P= ۱/۰۰) نداشـــت (جدول ۵) همچنین در ارتباط با حامل بودن مننگوکوک و نوع رشته تحصیلی دانشجویان نیز ارتباط معنی‌داری (P= ۰/۶۹) مشاهده نشد (جدول ۶).

**جدول ۶- میزان حاملان مننگوکوک برحسب نوع رشته تحصیلی در دانشجویان ساکن خوابگاه دانشگاه علوم پزشکی بقیۀالله (عج)**

| نوع | حامل نیست | | حامل است | |
|---|---|---|---|---|
| رشته تحصیلی | تعداد | درصد | تعداد | درصد |
| پزشکی | ۳۷ | ۹۷/۴ | ۱ | ۲/۶ |
| داروسازی | ۱۱ | ۱۰۰ | ۰ | ۰ |
| پرستاری | ۱۱ | ۹۱/۷ | ۱ | ۸/۳ |
| فوریت پزشکی | ۶ | ۱۰۰ | ۰ | ۰ |
| بهداشت | ۱ | ۱۰۰ | ۰ | ۰ |
| کل | ۶۶ | ۱۰۰ | ۲ | ۱۰۰ |
| معناداری | * Pvalue : ۰/۶۹ | | | |

*آزمون دقیق فیشر (df=1)

## بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر با هدف شناسایی سروگروپ‌های A ,B ,W135,C ,Y نایسریا مننژیتیدیس در دانشجویان ساکن خوابگاه دانشگاه علوم پزشکی بقیۀالله (عج) قبل و بعد از واکسیناسیون در سال ۱۳۹۹ و با توجه به نتایج مطالعاتی که در سال‌های گذشته در جمهوری اســـلامی ایران و نیز مطالعات مشابه که در کشورهای دیگر انجام شده اســـت اهمیت پایش دوره‌ای را در جامعه و نیروهای نظامی دو چندان کرده است. مننژیت مننگوکوکی با سویه‌های گوناگون یکی از چالش‌های مهم در مورد اثربخشـــی واکسن‌هایی است که در حال حاضر در دسترس می‌باشند.

در مطالعه عطایی و همکاران پنج مورد ناشی از سروتیپ C و یک نفر در اثر سروتیپ B تشخیص داده شدند با وجود اجرای برنامه واکسیناسیون ســـربازان علیه مننگوکوک، ابتلا به نقص سیستم کمپلمان گزارش گردید (۸). میزان ناقلین نایســـریا مننژیتیدیس در دانشـــجویان ۱۷ تا ۲۵ ســـاله اســـترالیای جنوبی ۶/۳ درصد گزارش شـــده که کمتر از حد انتظار بوده اســـت. در آن مطالعه، نویســـندگان به این نتیجه رسیدند که عوامل احتمالی در کاهش میزان ناقلین مننگوکوک ممکن اســـت ناشی از کاهش عادات به سیگار کشیدن باشد (۱۴).

در مطالعه صادقی، شـــیوع ناقلان مننگوکوک در بین دانشجویان پســـر دانشگاه علوم پزشکی کرمان ســـاکن خوابگاه‌ها حدود ۶/۸ درصد گزارش شده بود و بیشـــترین سروگروپ جدا شده مربوط به ســـروگروپ C (۴۲/۵ درصد) بـــود (۱۵). در مطالعه مقطعی با عنوان تعیین میزان ناقل مننگوکوک در دانشـــجویان دانشگاه علوم پزشـــکی شهید بهشـــتی از ســـال ۱۳۹۹ تا ۱۴۰۰ بر روی نمونه سواب حلق ۲۵۱ دانشجوی سالم با میانگین سنی ۲۳ سال انجام شـــد هیچ باکتری مننگوکوکی شناسایی نشد (۱۶). شیوع ناقلیـــن مننگوکوکی در مطالعه ماتیاس هتزمانســـر (Mathias Hetzmannseder) در متخصصـــان مراقبت‌هـــای بهداشـــتی شـــاغل از تعداد کل ۴۳۷ نمونه ۵ نمونـــه ( ۱/۱۴ درصد) برآورد شـــد که نشـــان دهنده خطر کم انتقال در این گروه است (۱۴). در تحقیـــق ما هم در مرحله اول قبل واکسیناســـیون هیچ گونه نایســـریای بیماری‌زا از دانشـــجویان جدا نگردیـــد که با توجه به شـــرایط شـــیوع کرونا با مطالعات فوق مطابقت دارد. در مطالعه دکتر عطایی میزان شـــیوع حاملان مننگوکوک از ۲۲۶ داوطلب ســـرباز ورودی سال اول قبل واکسیناسیون ۸ درصد گزارش شده که بیشترین سروگروپ جدا شده مربوط به گروه C (۵۰ درصد) بود (۱۷).

در مطالعه‌ی مقطعی لیلی (Lily) شیوع مننژیت مننگوکوکی در افراد سالم در سن ۱ تا ۲۴ سال در شهر، سائوپائولو، برزیل بررسی

شده اســت. بیشــترین گروه حاملان در نوجوانان ۱۰-۱۹ ساله مشاهده شد. شیوع سروگروپ C (۱۸/۴ درصد) و بعد از آن گروه ســروگروپ B (۱۲/۶ درصد بود ( ۱۱). در مطالعه کرزنیویسکی (Korzeniewski) و همــکاران تحت عنــوان ارزیابی حاملان نایســریا مننژیتیدیس و تجزیه و تحلیل ســروگروپ ها در بین سربازان لهستانی توسط انســتیتو نظامی پزشکی ورشو لهستان انجام شــد که در آن سوآپ نازوفارنکس از ۸۸۳ سرباز حرفه‌ای از تیپ زره پوش جدا شد، پس از استخراج DNA و آزمودن PCR، مشخص شــد ۷۶ سرباز حامل نایســریا مننژیتیدیس بوده‌اند و بیشــترین ســروگروپ B با ۸/۶ درصد را شامل شده بود. درصد ناقلین مننگوکوک در جمعیت ســربازان حرفه‌ای تا حد زیادی به ســن جوانی، درجه پایین نظامی و استعمال دخانیات مکرر آن‌ها بستگی داشــت (۱۸). در مطالعه سرگی ســیدورنکو (Sergey Sidorenko) و همکاران با عنوان مشاهده حاملان نازو فارنکس در متقاضیان آکادمی نظامی فدراسیون روسیه انجام شد نایسریا مننژیتیدیس در ۱۶/۲ درصــد از نمونه‌های روز اول، ۷/۷ درصد از نمونه‌های روز ســی‌ام و ۱۵/۹ درصد در روز شــصتم مشاهده شد. ترکیب ســروگروپ در روز اول متنوع‌ترین بود، با گروه‌های B و W غالب به ترتیب ۴۰ و ۹ درصد وجود داشــت ولی در روز ۶۰ تنوع کمی با ۵۸ درصد ســروگروپ W وجود داشــت (۱۹). همچنیــن مطالعه‌ای توســط جی ها ( Jha) بــر روی نیروهای نظامی در هند انجام شــد و طیفی از عوامل خطر بالقوه مرتبط با مننگوکوکی را بررســی کرد در ایــن مطالعه نرخ ناقل بودن افراد به طور کلی در ســواب های گلو در طی یک دوره ۳ ماهه از ۳۶۰ عضو در ســنین ۱۶-۲۵ ســال به دســت آمده ۱۱/۹ درصد بود. فراوانی میزان ناقل بودن در افراد یک خانواده به طور قابل توجهی بالاتر بود که می‌تواند به دلیل شلوغی شرایط زندگی و ارتباط در خانواده باشــد ( ۲۰، ۲۱). در مطالعه دیگری توسط کرزنیویسکی (Korzeniewski) و همکاران تعداد ۱۲۴۶ ســرباز از تیپ ۱۰ زرهی ســواره در لهســتان در دوره ژانویه تــا فوریه ۲۰۱۶ مورد بررسی قرار گرفتند. از ۱۲۴۶ سرباز مورد آزمایش، ۶۵ نفر حامل نایسریا مننژیتیدیس بودند (۲۲).

در مطالعه ما در مرحله اول قبل واکسیناسیون هیچ‌گونه سروگروپ نایســریای بیماری زا از گروه ناقلین دانشجویان جدا نگردید، در مرحلــه دوم نمونه‌های بعد واکسیناســیون از تعداد ۶۸ نمونه ۲ عدد نایســریای سروگروپ C از دانشــجویان ساکن خوابگاه جدا گردید و نرخ حاملان (۱/۳۶ درصد) است. با توجه نتایج آماری به دست آمده در این تحقیق هیچ‌گونه ارتباط معنی‌داری در ارتباط بــا بیماری زمینه‌ای (P=۱/۰۰) و همچنین نوع رشــته تحصیلی (P=۰/۶۹) دانشجویان با سرو گروپ جدا شده وجود ندارد. مشابه تحقیق ما در سال ۱۳۹۷ تا سال ۱۳۹۸ در دانشگاه شهید بهشتی تهران پژوهشــی انجام شده است، نتایج آن تحقیق حکایت از آن داشــت که هیچ‌گونه نایســریای مننگوکوکی از دانشجویان جدا نشده بود، هر چند علت عدم جداسازی سویه‌های مختلف نایسریا مننژیتیدیس به دلیل استفاده از ماسک و رعایت فاصله اجتماعی و استفاده حداکثری از دستورالعمل‌های بهداشتی بیان شده است. این تحقیق با وجود محدودیت‌های زیاد به علت شــیوع گسترده Covid-۱۹ انجام شد. نتایج به دست آمده در این پژوهش احتمالاً تحت تأثیر اســتفاده حداکثری شــیوه‌نامه‌های بهداشتی از قبیل استفاده از ماســک و دستکش و همچنین مواد ضد عفونی‌کننده دست و عدم حضور دانشجویان در خوابگاه‌ها است.

در مطالعه مارک آلدرســون (Mark R. Alders) کاهش قابل توجــه IMD (Invasive Menangococal Disease) احتمــالاً به دلیل قرنطینه و کنترل شــدید شــیوع عفونت و به حداقل رساندن تماس‌های نزدیک و محدود کردن اجتماعات بوده اســت (۲۳). در مطالعه برانا و مورلا (Brianna R. Morello) نشان داد در زمان همه‌گیری کرونا رعایت شیوه‌نامه‌های بهداشتی می‌تواند تأثیر زیادی در پیشــگیری از بیماری‌های واگیر از جمله IMD داشته باشد (۲۴).

مطالعــه آنگلا (Angela) نیز کاهش قابل توجه در بیماری‌های تهاجمی ناشی از ســه پاتوژن باکتریایی (استرپتوکوک پنومونیه، همو فیلوس آنفلوانزا و نایســریا مننژیتیدیس) که مانند SARS-CoV-2 از راه تنفســی منتقل می‌شوند را نشان داده است (۲۵). در مطالعــه حاضــر هم علی‌رغــم دقت در نمونه‌گیــری و انجام آزمایش‌ها، ســروگروپ بیماری‌زا در افراد مورد مطالعه در مرحله اول شناســایی نشد که احتمالاً به علت شرایط همه‌گیری کرونا و رعایت دستورالعمل‌های بهداشتی مربوطه است.

پاییــن بودن نرخ حاملان و همچنین جداســازی ســرو تیپ C نایســریا مننژیتیدیس که با بروز اپیدمی مرتبط است با تعدادی از مطالعــات فوق مطابقــت دارد. نتایج تحقیق مــا نیز مرتبط با

شرایط خاص شیوع ویروس کرونا، نمونه‌گیری از دانشجویان بعد واکسیناسیون با تأخیر شش ماهه، استقرار دانشجویان دو ماه قبل از نمونه‌گیری مرحله دوم در خوابگاه‌ها، انجام واکسیناسیون مرحله‌ای کرونا، تعداد آماری کم جامعه مورد مطالعه و عوامل ناشناخته دیگر مرتبط است. مطالعات متعدد نشان داده است که بالا بودن شیوع ناقلین مننگوکوکی در نظامیان حدود ۲۵ درصد، بیشتر مربوط به گروهی از نظامیان که در یک محیط سر بسته مثل آسایشگاه‌های سربازی که تعداد زیادی از افراد در این مکان‌ها در کنار هم اسکان دارند است. در افراد مورد مطالعه ما، دانشجویان در شرایط کرونایی و با حفظ شرایط بهداشتی در اتاق‌های جداگانه و با تعداد محدود حضور داشتند؛ بنابراین در این شرایط نرخ حاملان بسیار کمتر از گروهی است که در آسایشگاه‌ها و با تعداد زیاد ساکن می‌باشند. محدودیت اصلی مطالعه ایجاد شرایط کرونایی در جامعه بود که همه اهداف مطالعه را تحت تأثیر قرارداد و این شرایط مستقیماً در تعداد نمونه‌ها و نتایج تأثیرگذار بود چرا که تعدادی از دانشجویان را در مرحله دوم از دست دادیم. همچنین رعایت شدید شرایط کرونایی از قبیل رعایت فاصله‌گذاری، عدم حضور کامل دانشجویان در اتاق‌ها و زدن مداوم ماسک توسط دانشجویان شرایط مطالعه را از حالت عادی خارج نمود. جدا سازی نایسریاهای غیر بیماریزا (ساپروفیت) در مرحله نمونه‌گیری قبل واکسیناسیون و همچنین جدا سازی سروگروپ C نایسریا مننژایتیدیس با نرخ حامل کم (۱/۳۶ درصد) در مرحله نمونه‌گیری بعد واکسیناسیون و با عنایت به نتایج به دست آمده که بعد از واکسیناسیون هنوز سویه C وجود دارد و این گروه سرولوژیکی با بروز اپیدمی در ارتباط است، آیا واکسن دوگانه و یا واکسن چهارگانه لازم است به دانشجویان تزریق شود یا نه احتیاج به مطالعه و بررسی کامل‌تری دارد. نتایج تحقیق به محققین دیگر پیشنهاد می‌کند این نوع تحقیق در جمعیت دانشجویان نظامی حتماً به صورت گسترده و چند مرکزی تکرار شود.

**تشکر و قدردانی**

این مقاله بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی پزشکی است و با حمایت دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) و گروه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) انجام شده و با شماره ۱۵۷۰ در تاریخ ۱۳۹۸/۷/۱۵ ثبت شده است. لذا، از مسئولین دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) کمال تشکر و سپاسگزاری را می‌نماییم.

**تضاد منافع**

بدین وسیله نویسندگان تصریح می نمایند که هیچ گونه تضاد منافعی در رابطه با مطالعه حاضر وجود ندارد

## References

1. Van Deuren M, Brandtzaeg P, Van Der Meer JW (January 2000). Update on meningococcal disease with emphasis on pathogenesis and clinical management. Clin Microbiol Rev. 2000; 13 (1): 144–66. DOI: 10.1128/CMR.13.1.144 PMID: 10627495 PMCID: PMC88937
2. Van Kessel F, Van Den Ende C, Oordt-Speets AM, Kyaw MH. Outbreaks of meningococcal meningitis in non-African countries over the last 50 years: a systematic review. J Glob Health. 2019; 9(1): 010411. DOI: 10.7189/jogh.09.010411 PMID: 30937163 PMCID: PMC6441124
3. Mola SJ, Nield LS, and Weisse ME (February 27, 2008). Treatment and Prevention of N. meningitidis Infection". Infections in Medicine. 25(3): 128-33.
4. Segal S, Pollard A. Vaccines against bacterial meningitis. Br Med Bull. 2005; 72: 65-81. DOI: 10.1093/bmb/ldh041 PMID: 15802609
5. Albuquerque R Ch, Moreno A C R, Santos S R D, Ragazzi S L B, Martinez M B. Multiplex-PCR for diagnosis of bacterial meningitis. Braz J Microbiol. 2019; 50(2): 435-43. DOI: 10.1007/s42770-019-00055-9 PMID: 30796713 PMCID: PMC6863191
6. Rouphael NG, Stephens DS. Neisseria meningitidis: Biology, microbiology, and epidemiology Methods Mol Biol. 2012: 799: 1-20. DOI: 10.1007/978-1-61779-346-2_1 PMID: 21993636 PMCID: PMC4349422
7. McNamara LA, Shumate AM, Johnsen P, MacNeil JR, Patel M, Bhavsar T, et al. First use of a serogroup B meningococcal vaccine in the US in response to a university outbreak. Pediatrics. 2015; 135(5): 798-804. DOI:10.1542/peds.2014-4015 PMID: 25917990 PMCID: PMC4620546
8. Ataee RA, Mehrabi tavana A, Ghorbani GH, Hossaini Shokooh SJ, Hajia M, Karami A. Serotyping of Neisseria meninigitidis in conscripts with meningitis admitted to five military hospital in Tehran between September 2004 and September 2006. Scientific and Research Journal of Army University of

Medical Sciences-JAUMS. 2006; 4(1): 771- 9. (Persian)

9. Millar BC, Moore PJA, Moore JE. Meningococcal disease: Has the battle been won? J R Army Med Corps. 2017; 163(4): 235-41. DOI: 10.1136/jramc-2016-000695 PMID: 28039342

10. Borrow R, Lee J-S, Vazquez JA, Enwere G, Taha M-K, Kamiya H, et al. Meningococcal disease in the Asia-Pacific region: Findings and recommendations from the Global Meningococcal Initiative. Vaccine. 2016; 34(48): 5855-62. DOI: 10.1016/j.vaccine.2016.10.022

11. Weckx LY, Puccini RF, Machado A, Gonçalves MG, Tuboi S, de Barros E, et al. A cross-sectional study assessing the pharyngeal carriage of Neisseria meningitidis in subjects aged 1-24 years in the city of Embu das Artes, Sao Paulo, Brazil. Braz J Infect Dis. 2017; 21(6): 587-95. DOI: 10.1016/j.bjid.2017.06.005 PMID: 28711456 PMCID: PMC9425485

12- Berangi Z , Karami M, Mohammadi Y, Nazarzadeh M, Zahraei S, Javidrad H, Heidari S. Epidemiological profile of meningitis in Iran before pentavalent vaccine introduction. BMC Pediatr. 2019; 19(1): 370. DOI: 10.1186/s12887-019-1741-y PMID: 31640619 PMCID: PMC6806508

13. Zhu H, Wang Q, Wen L, Xu J, Shao Z, Chen M, et al. Development of a multiplex PCR assay for detection and genogrouping of Neisseria meningitidis. J Clin Microbiol. 2012; 50(1): 46-51. DOI: 10.1128/JCM.00918-11 PMID: 22090406 PMCID: PMC3256684

14. Lisa-Maria Steurer, Mathias Hetzmannseder, Birgit Willinger,Peter Starzengruber, Claudia Mikula, Andrea KorPublished Pharyngeal carriage rates of Neisseria meningitidis in health care professionals at a tertiary university pediatric hospital. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 39(9): 1703-9. DOI: 10.1007/s10096-020-03894-9

15. Sadeghi M, Ahmadrajabi R, Dehesh T, Saffari F. Prevalence of meningococcal carriage among male university students living in dormitories in Kerman, southeast of Iran. Pathog Glob Health. 2018; 112(6): 329-33. DOI: 10.1080/20477724.2018.1514138 PMID: 30156971 PMCID: PMC6381525

16. Fahimzad A, Khatmi M, Shiva f, Mortazavi S E, Shirvani F, Gorji F A. Evaluation of pharyngeal carriage of Neisseria meningitidis in Tehran, Iran. New Microbes New Infect. 2022; 45: 100953. DOI: 10.1016/j.nmni.2022.100953 PMID: 35145699 PMCID: PMC8819400

17. Ataee R A, Mehrabi-Tavana A, Hosseini S M J Kavian F. Carriage rates of Neisseria meningitidis serogroups: Determination among freshmen conscripts before vaccination. Iran J Microbiol. 2016; 8(3): 203–09. (Persian) PMID: 27928488 PMCID: PMC5139924

18. Korzeniewski K, Konior M. Evaluation of Neisseria meningitidis carriage with the analysis of serogroups, genogroups and clonal complexes among Polish soldiers. Pol J Microbiol. 2018; 67(4): 493-500. DOI: 10.21307/pjm-2018-058 PMID: 30550236 PMCID: PMC7256823

19. Sidorenko S, Zakharenko S, Lobzin Y, Zhdanov K, Martens E, Gostev V, et al. Observational study of nasopharyngeal carriage of Neisseria meningitidis in applicants to a military academy in the Russian Federation. Int J Infect Dis. 2019; 81: 12-6. DOI: 10.1016/j.ijid.2018.12.012 PMID: 30634039

20. Thompson MJ, Ninis N, Perera R, Mayon-White R, Phillips C, Bailey L, et al. Clinical recognition of meningococcal disease in children and adolescents. lancet. 2006; 367(9805): 397-403. DOI: 10.1016/S0140-6736(06)67932-4 PMID: 16458763

21.Bruce MG, Rosenstein NE, Capparella JM, Shutt KA, Perkins BA, Collins M. Risk factors for meningococcal disease in college students. JAMA. 2001; 286(6): 688-93 DOI: 10.1001/jama.286.6.688 PMID: 1149561822

22. Korzeniewski K, Konior M, Kiedrowska M, Wodka E, Zwolińska E, Skoczyńska A. Prevalence of neisseria meningitidis carriage with identification of serogroups and genogroups in professional soldiers. Adv Exp Med Biol. 2017; 955: 29-37. DOI: 10.1007/5584_2016_164 PMID: 2773902523.

23. Alde M R, Arkwr P D, Xilia B, Steve B, Borrow R Caugant D A, et al. Surveillance and control of meningococcal disease in the COVID-19 era: A Global Meningococcal Initiative review. Journal of Infection. 2022; 84(3): 289-96. DOI:10.1016/j.jinf.2021.11.01

24. Brianna R, Morello A, Milazzo A, Marshall H S, Giles L C. lessons for and from the COVID-19 pandemic response — An appraisal of guidance for the public health management of Invasive Meningococcal Disease. J Infect Public Health. 2021; 14(8): 1069–74.. DOI 10.1016/j.jiph.2021.06.014 PMID: 34218099 PMCID: PMC8230839

25. Brueggemann A B , Rensburg M J J V, Shaw D, McCarthy N D , Jolley K A, Maiden M C J , et al. Changes in the incidence of invasive disease due to Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, and Neisseria meningitidis during the COVID-19 pandemic in 26 countries and territories in the Invasive Respiratory Infection Surveillance Initiative: A prospective analysis of surveillance data. Lancet Digit Health. 2021; 3(6): e360-70. DOI: 10.1016/S2589-7500(21)00077-7 PMID: 34045002 PMCID: PMC8166576