

دارای رتبه علمی - پژوهشی از کمیسیون
نشریات علوم پزشکی کشور

مننژیت ناشی از ویروس اوریون در کودکان بستری در مرکز آموزشی درمانی طالقانی گرگان

چکیده

زمینه و هدف: مننژیت شایعترین عارضه عفونت با ویروس اوریون در کودکان است. تشخیص به موقع مننژیت کودکان در درمان و مدیریت بیماری اهمیت دارد. در این مطالعه مننژیت ناشی از ویروس اوریون در کودکان مراجعه کننده به مرکز آموزشی درمانی طالقانی گرگان بررسی شد.

روش بررسی: در این بررسی توصیفی تحلیلی از کلیه کودکان زیر 10 سال که از تیرماه 1387 الی تیر 1389 به مرکز آموزشی درمانی کودکان طالقانی گرگان با علائم مننژیت مراجعه کردند نمونه مایع مغزی نخاعی و خون گرفته شد. برای 40 نمونه بیمار که کشت باکتریایی آنها منفی بود، استخراج ژنوم ویروسی با استفاده از کیت انجام شد و سپس جستجوی ژنوم ویروس اوریون به روش *Real-Time PCR* صورت گرفت. یافته های دموگرافیک، بالینی، آزمایشگاهی و مولکولی در نرم افزار *SPSS18* وارد و با تست χ^2 مورد آنالیز قرار گرفت و $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شود.

یافته ها: 3 بیمار (7/5%) از نظر ویروس اوریون مثبت شدند که 2 مورد پسر و 1 مورد دختر بودند. هر سه مورد مثبت، تب 1-5/0 درجه و استفراغ داشته ولی فاقد فونتانل برآمده بودند. هر سه بیمار فاقد علائم کرنیک، برادزینسکی، سفتی گردن، هپاتواسپلنومگالی، لنفادنوپاتی، فارنژیت و راش بودند. همگی *ESR* بالاتر از حد نرمال داشته و *CRP* در 2 مورد مثبت بود و از نظر پروتئین یک مورد بالاتر از حد نرمال گزارش شد.

نتیجه گیری: از آنجا که مننژیت یک اورژانس پزشکی به شمار می رود جهت تشخیص سریع و درمان به موقع در موارد مننژیت آسپتیک، بهره گیری از تکنیک های تشخیصی مولکولی پیشنهاد می گردد.

واژه های کلیدی: مننژیت، ویروس اوریون، مایع مغزی نخاعی، *Real-Time PCR*

عبدالوهاب مرادی

استاد ویروس شناسی، مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی
دانشگاه علوم پزشکی گلستان

سمیه آزادفر

کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماریهای
عفونی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

فاطمه چراغعلی

استادیار کودکان، مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی
دانشگاه علوم پزشکی گلستان

ناعمه جاوید

کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماریهای
عفونی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

امیر قائمی

استادیار ویروس شناسی، مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی
دانشگاه علوم پزشکی گلستان

علیجان تیرائی

استادیار ویروس شناسی، مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی
دانشگاه علوم پزشکی گلستان

نویسنده مسئول: علیجان تیرائی

تلفن: 09112733221

پست الکترونیک: alijant@yahoo.com

آدرس: گرگان، دانشگاه علوم پزشکی مجموعه
فلسفی، دانشکده پزشکی، گروه میکروبیولوژی

آدرس مقاله:

مرادی ع، آزادفر س، چراغعلی ف، جاوید ن، قائمی ا، تیرائی ع. "مننژیت ناشی از ویروس اوریون در کودکان بستری در مرکز آموزشی درمانی طالقانی گرگان". مجله علوم آزمایشگاهی پاییز و زمستان، 1390 دوره پنجم (شماره 2): 1-7

وصول مقاله: 90/7/25

اصلاح نهایی: 90/10/18

پذیرش مقاله: 90/11/30

مقدمه

ویروس اوریون از خانواده پارامیکزو ویروس ها و دارای ژنوم RNA تک رشته ای است. یک سروتیپ از این ویروس شناخته شده است و به نظر می رسد انسان تنها میزبان طبیعی برای ویروس اوریون باشد. این ویروس در سرتاسر جهان انتشار داشته و بیماری اوریون را ایجاد می کند (1). بیماری اوریون یک بیماری حاد ویروسی همراه با عوارض متعدد است. اوریون به صورت اولیه غدد پاروتید (بناگوشی) را درگیر می کند (2). اوریون در تمام طول سال وجود دارد ولی شیوع آن در زمستان و اوایل بهار بیشتر است. این بیماری قبل از واکسیناسیون، هر 4-2 سال به صورت همه گیر تظاهر می نمود ولی در حال حاضر در جوامعی که در سطح وسیعی ایمن سازی می شوند همه گیری آن شایع نیست و تنها گاهی اپیدمی هایی در بین جمعیت های حساس که در نقاط پر ازدحام به سر می برند ممکن است بروز نماید. این بیماری مخصوص دوران کودکی است و در 85 درصد موارد در کودکان کمتر از 15 سال عارض می شود و اغلب موارد با علامت بالینی در سنین 5-10 سالگی بروز می نماید. مواردی از اوریون در بین شیرخواران و سالمندان گزارش شده است. انتقال ایمنی غیرفعال از سطح جفتی و ابتلا اکثریت افراد در سنین کودکی باعث شده که این بیماری در ابتدا و انتهای زندگی بسیار نادر باشد. شدت بیماری در بزرگسالان بیشتر از کودکان است و اوریون با علائم اختصاصی، در افراد مذکر شایع تر از افراد مونث می باشد (3). این بیماری در غالب موارد به صورت خفیفی بروز می کند و یک بیماری عفونی حاد ویروسی در کودکان سنین مدرسه و نوجوانان است که بعد از چند روز خود به خود خوب می شود ولی گاهی بیماری با درگیری ارگان های دیگر همراه میباشد. اگر قبل، در طی و یا بعد از تورم غدد بزاقی، کودک دچار درد و سفتی گردن شود علامت بروز مننژیت ناشی از اوریون است که می تواند خطرناک باشد. مننژیت در گذشته، اکثراً به صورت عوارض نورولوژیکی با عفونت های ویروس اوریون ایجاد می شدند (4). گرفتاری دستگاه اعصاب مرکزی به صورت افزایش تعداد سلول های مایع مغزی نخاعی بدون وجود علائم عصبی

در 50-65 درصد موارد و مننژیت با علائم بالینی در نیمی از افرادی که مایع مغزی نخاعی غیرطبیعی دارند روی می دهد. مننژیت یک سندرم حاد کلینیکی می باشد که به وسیله التهاب مننژ مشخص می گردد. این وضعیت پزشکی با نشانه های وابسته به مننژ مانند تب، سردرد، سفتی گردن، حساس شدن به نور، حالت تهوع، استفراغ، نشانه هایی از بدکاری مغز (مانند رخوت، لتارژی، گیجی و کما) و افزایش تعداد سلول های سفید خون در مایع مغزی نخاعی (پلئوسایتوزیس CSF)، مشخص می شود (4). مننژیت در افراد مبتلا به اوریون معمولاً طی روزهای 3-10 بیماری عارض می گردد و بیمار دچار سردرد، استفراغ و سفتی گردن می شود و در مردان، سه برابر زنان دیده می شود. قبل از گسترش واکسیناسیون، ویروس اوریون علت حدود 15% موارد مننژیت محسوب می شد. مننژیت اوریونی، خود محدود شونده بوده ولی گاهی عوارض نورولوژیکی پایدار و بویژه کری به جای می گذارد. آنسفالیت بعد از عفونت، بسیار نادر بوده و پیش آگهی بدی دارد و حدود 10-14 روز بعد از تورم غدد بزاقی، بروز می نماید (3 و 4). در مننژیت ویروسی میزان پروتئین CSF ممکن است کمی بالا رود اما میزان گلوکز عموماً نرمال است (5 و 6). مننژیت اوریونی اگرچه در مقایسه با مننژیت های دیگر خوش خیم تر است ولی در هر حال نیازمند مراقبت های ویژه می باشد و تشخیص سریع بیماری اهمیت زیادی داشته و از درمان نادرست جلوگیری می نماید. امروزه روش های مولکولی به جهت سرعت بالای آنها در ردیابی ویروس این امتیاز را پیدا کرده اند که جایگزین روش های قدیمی شوند (7 و 8). هدف از این مطالعه تشخیص و تعیین فراوانی مننژیت آسپتیک ایجاد شده توسط ویروس اوریون در کودکان مراجعه کننده به مرکز آموزشی درمانی طالقانی گرگان در طی دو سال به روش Real-Time PCR می باشد.

روش بررسی

جامعه مورد مطالعه ما شامل کلیه کودکان مشکوک به مننژیت مراجعه کننده به مرکز آموزشی درمانی طالقانی گرگان از تیر ماه 1387 تا مهر 1389 بود. در زمان جمع آوری نمونه ها

از صد درصد بودن توالی پرایمرها از آن ها در Real-Time PCR استفاده شد. سپس از کیت سایبرگرین کمپانی Fermentase ساخت کشور آلمان با نام تجاری Maxima® SYBR Green/ROX q PCR Master Mix (2X) (Fermentas) استفاده شد. پروتکل Real-Time PCR با دستگاه ABI system 7300 ، 50 درجه سانتیگراد به مدت 2 دقیقه یک سیکل، 95 درجه سانتیگراد به مدت 10 دقیقه یک سیکل ، 95 درجه سانتیگراد به مدت 15 ثانیه و 60 درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه در 40 سیکل انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده برای Mumps در جدول 1 آمده است (9).

جدول 1: توالی پرایمر مورد استفاده برای شناسایی ویروس اوریون با روش Real Time-PCR

توالی پرایمرهای مورد استفاده	
Primer(F)	5-CAGGATCCAATTCAAGCACA-3
Primer (R)	5-AATCTTGGTGTCCATCCCC-3

اطلاعات جمع آوری شده در SPSS18 وارد و آنالیز داده ها با تست X^2 انجام شد و $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

24 مورد (60 درصد) از 40 کودک مورد مطالعه پسر و 16 مورد (40 درصد) دختر بودند. بر اساس محل زندگی افراد مراجعه کننده 3 نفر (7/5 درصد) از روستا و 37 نفر (92/5 درصد) از ساکنین شهر بودند.

در این مطالعه 3 مورد (7/5%) از نظرو ویروس اوریون در مایع مغزی نخاعی مثبت شد. این موارد مثبت از نظر کشت باکتریایی و رنگ آمیزی گرم منفی بودند و همگی پلئوسایتوزیس CSF داشتند. توزیع جنسی موارد مثبت شامل 2 پسر و 1 دختر بودند. 1 مورد در محدوده سنی 3 ماه تا 1 سال ، 1 مورد در محدوده سنی 2-1 سال و 1 مورد هم در گروه سنی بیشتر از 2 سال قرار داشتند. از نظر سکونت هر 3 مورد ساکن شهر بودند. توزیع فراوانی این موارد مثبت برحسب جنس، سن و محل سکونت در جدول شماره 2 نشان داده شده است

پرسشنامه ای مربوط به اطلاعات دموگرافیک، یافته های بالینی و متغیرهای مورد بررسی تکمیل گردید و سپس یافته های آزمایشگاهی نیز بدان افزوده شد. کودکان مراجعه کننده توسط پزشک متخصص مورد معاینه بالینی قرار گرفتند و از نظر علائم بیماری و همچنین علائم تحریک کننده مننژ مانند Kernig، Rodor و Brudzinsky بررسی شدند. سپس از موارد مشکوک توسط پزشک متخصص از ناحیه انتهایی ستون مهره ها بین مهره های L2 و L3 یا L3 و L4 به وسیله سوزن مخصوص مایع مغزی نخاعی (1-3 ml) گرفته شد. سه لوله مجزا حاوی مایع مغزی نخاعی به آزمایشگاه انتقال داده شد. از یک لوله برای کشت باکتریایی، از لوله دوم برای بررسی بیوشیمیایی و شمارش سلولی و از لوله سوم برای تشخیص مولکولی استفاده گردید. برای کشت باکتریایی ابتدا مایع مغزی نخاعی را ساترینفوژ کرده سپس از رسوب یا مایع روئی جهت رنگ آمیزی گرم و کشت روی محیط کشت بلاد آگار، شکلات آگار و ائوزین متیلن بلو آگار استفاده شد. پس از گذشت زمان مورد نظر مواردی که کشت منفی بودند وارد مطالعه ملکولی ویروسی شدند. لوله دوم برای آزمایشات بیوشیمیایی از نظر میزان قند، پروتئین و شمارش سلولی مورد بررسی قرار گرفت. برای شمارش سلولی از خون و مایع مغزی نخاعی استفاده شد. نمونه ها از نظر میزان گلبولهای سفید و همچنین درصد پلی مورفونوکلئرها و لمفوسیت ها شمارش گردید. میزان سرعت رسوب گلبول های قرمز (ESR) ، پروتئین های فاز حاد (CRP) ، هموگلوبین و پلاکت نیز از نمونه خون بررسی گردید. برای نمونه هایی که پلئوسایتوزیس CSF داشتند و از نظر کشت باکتریایی منفی گردیدند Real-Time PCR انجام شد.

برای استخراج اسید نوکلئیک از کیت High Pure Viral Nucleic Acid (Roche) استفاده شد و RNA ویروس از 200µL نمونه CSF طبق دستورالعمل تخلیص گردید. RNA حاصل در 80- درجه سلسیوس تا زمان انجام Real-Time PCR ذخیره گردید. پس از انتخاب پرایمرها برای مطمئن شدن از درست بودن ترتیب توالی آن ها ابتدا در سایت [ncbi \(www.ncbi.nlm.nih.gov/BLUST\)](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLUST) بلاست انجام شد و پس

جدول 2: توزیع فراوانی موارد مثبت مایع مغزی نخاعی از نظر ویروس اوریون بر حسب جنس، سن و محل سکونت

متغیرهای مورد بررسی	موارد مثبت ویروس اوریون	تعداد	درصد
جنس	پسر	2	(66/7)
	دختر	1	(23/3)
سن	1-3 ماه	0	0
	3 ماه-1 سال	1	(33/3)
	1-2 سال	1	(33/3)
	بیش از 2 سال	1	(33/3)
سکونت	شهر	3	(100)
	روستا	0	0

برادزیسکی، سفتی گردن، هپاتواسپلنومگالی، لنفادنوپاتی، فارنژیت و راش منفی بودند. از نظر آماری ارتباط معنی داری بین علایم بالینی و موارد مثبت مشاهده نشد. یافته های معاینات بالینی افراد دارای ژنوم ویروس اوریون در جدول شماره 3 نشان داده شده است.

از نظر علائم بالینی هر 3 مورد Mumps مثبت، فونتانل منفی (100 درصد) بودند. همه موارد (100 درصد) تب 0/5-1 درجه داشتند. هر سه مورد (100 درصد استفراغ) داشتند. سردرد در 2 کودک (66/7 درصد) مشاهده شد. بیماران از نظر کرنینگ،

جدول 3: توزیع فراوانی یافته های بالینی افراد مبتلا به مننژیت ناشی از ویروس اوریون

یافته های بالینی	استفراغ	سردرد	فونتانل	ردود	برودزیسکی	کرنینگ	راش	فارنژیت	هپاتواسپلنومگالی	لنفادنوپاتی
مثبت	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0
منفی	0	1	3	3	3	3	3	3	3	3

CSF، 443/33 بود و در بررسی سلولی CSF در دو مورد ارجحیت با لمفوسیت بود و فقط یک مورد میزان نوتروفیلها بیشتر بود. از نظر آماری ارتباط معنی داری بین داده های حاصل از آنالیز بیوشیمیایی و موارد مثبت یافت نشد. اطلاعات مربوط به یافته های آزمایشگاهی در جدول 4 آمده است.

بررسی بیوشیمیایی موارد مثبت مننژیت اوریونی نشان داد که همه موارد ESR بالاتر از حد نرمال داشتند. CRP در 2 مورد (66/7 درصد) مثبت و در 1 مورد منفی بود. قند CSF در همه موارد نرمال بود. پروتئین CSF دو مورد (66/7 درصد) نرمال و در یک مورد بالاتر از حد نرمال گزارش شد. میانگین WBC در

جدول 4: یافته های آزمایشگاهی در کودکان مبتلا به مننژیت ناشی از ویروس اوریون

متغیرها	تعداد	فراوانی
ESR	3	(100)
CRP	2	(66/7)
پروتئین CSF	1	(23/3)
CSF قند	2	(66/7)
	1	(23/3)
	3	(100)
	0	0

از نظر آماری ارتباط معنی داری بین داده های حاصل از یافته های آزمایشگاهی و موارد مثبت یافت نشد.

بحث

از نظر علائم بالینی تب در همه بیماران وجود داشت و در مطالعات بررسی شده نیز تب در 98-100 درصد موارد مشاهده شده بود (8 و 5). لذا همچنان تب را می توان یکی از علائم شایع در موارد عفونت سیستم عصبی مرکزی ناشی از ویروس اوریون دانست. علائم بعدی استفراغ و سردرد می باشند در مطالعه ما 71/1 درصد بیماران مراجعه کننده استفراغ و 53/3 درصد سردرد داشتند و از میان موارد مثبت 75 درصد سردرد و همه موارد استفراغ داشتند البته ذکر این نکته قابل اهمیت است که علامتی مانند سردرد در کودکان زیر 2 سال قابل ارزیابی نمی باشد و چون مطالعه ما محدوده سنی کودکان را در بر داشت ممکن است در بسیاری از موارد قابل بررسی نبوده است. از دیگر علائمی که فقط در نوزادان وجود دارد فونتانل می باشد که در سنین زیر یکسال و قابلیت استفاده از آن در شناسایی موارد مشکوک می باشد که در میان موارد مثبت ما در هیچ کدام مشاهده نشد. بیماران از نظر Kernig، Brudzinsky، Rodor، هپاتواسپلنومگالی، لنفادنوپاتی، فارنژیت و راش منفی بودند. در مطالعه ای 51% بیماران اوریونی بدون داشتن علائم تحریک مننژ مثل سفتی گردن، کرنیک و برودزینسکی، آنالیز مایع مغزی نخاعی غیرطبیعی داشته و فقط 40 تا 50% بیماران مبتلا به مننژیت اوریونی که با سرولوژی و جداسازی ویروس ثابت شده اند، به تورم پاروتید مبتلا بودند (10). لذا می توان گفت که شایعترین

تشخیص آزمایشگاهی عفونت اوریونی بر اساس جداسازی ویروس، آزمایشات سرولوژی و مولکولی استوار است. روش های سنتی تشخیص ویروس اوریون اغلب غیر حساس، طولانی و پر زحمت هستند. با توجه به مشکلات موجود جهت جداسازی ویروس از نمونه های CSF مانند تیتراژ پایین ویروس در CSF، ضرورت به کارگیری تکنیک های مولکولی هرچه بیشتر احساس می شود (2 و 1).

در این مطالعه از میان 40 کودک مراجعه کننده 3 مورد (7/5%) برای ویروس اوریون مثبت شدند که با توجه به گزارشات محدودی که در کشور برای تشخیص موارد مننژیت اوریونی به روش مولکولی وجود داشته و شیوع 1 تا حدود 11 درصد را ذکر نموده اند، در این محدوده قرار داشته است (10 و 11). این در حالی است که میزان شیوع در مطالعات انجام شده در خارج از کشور بیانگر جداسازی ویروس به میزان متوسط 6 تا 31 درصد می باشد (12 و 13).

موارد مثبت ویروس در دو گروه جنسی شامل 2 پسر و 1 دختر بودند که با سایر مطالعات که میزان بالای درگیری پسران نسبت به دختران را تاکید می نماید همراهی دارد (14). در حالیکه شیوع بیماری اوریون در هر دو جنس یکسان است ولیکن علائم درگیری سیستم عصبی مرکزی در مردان 3 تا 5 برابر بیشتر اتفاق می افتد (15).

در مطالعه حسینی نسب 36/7% ویروس اوریون یافت شد (10). در مطالعه کرمانیان یک مورد به طور همزمان از نظر هر دو ویروس اوریون اتر و ویروس مثبت بود (11). در مطالعه در ژاپن (31/1%) 14 مورد ویروس اوریون یافت شد (20) و Krause (14). در مطالعه روی 88 نمونه CSF در انگلستان، 5 مورد (5/61%) ویروس اوریون شناسایی کرد (13). مطالعات اپیدمیولوژیک محدودی در مورد مننژیت ناشی از اوریون در ایران انجام شده است و اکثر مطالعات انجام شده نیز به روش سرولوژیک بوده است. اما همانطور که از بررسی مطالعات انجام شده در خارج و داخل کشور بر می آید جهت جستجوی عفونت های ویروسی بخصوص RNA ویروس ها Real-Time PCR روشی مطمئن و حساس برای تشخیص میزان کم RNA ویروس حتی در میزان کم نمونه ها می باشد و می تواند نتیجه قابل اطمینانی را ارائه دهد. در این مطالعه مولکولی شیوع مننژیت ناشی از اوریون در منطقه ما در مقایسه با کشور شرقی مانند ژاپن (31/1%) کمتر بوده و در مقایسه با کشور اروپایی مانند انگلستان (5/6%) بیشتر بوده است در مقایسه با مطالعات انجام شده در داخل کشور نیز از مطالعه حسینی نسب (36/7%) کمتر و از مطالعه کرمانیان (0/1%) بیشتر بوده است.

علائم دیده شده در این مطالعه سردرد، استفراغ و تب می باشد، نتایج مشابهی در مطالعه Hatamian و Modaressh مشاهده شد (17 و 16).

در مورد آنالیز بیوشیمیایی از میان افراد مبتلا به مننژیت اوریونی، همه موارد قند نرمال داشتند، پروتئین در دو مورد نرمال و یک مورد بالاتر از حد نرمال که این مورد نیز با مطالعات دیگر همخوانی دارد (18). در مننژیت آسپتیک میزان پروتئین CSF نرمال و در بعضی موارد بالاتر می رود که با یافته حاصل مطابقت دارد. همه موارد (100 درصد) Mumps مثبت ESR بالاتر از حد نرمال داشتند. CRP در 2 مورد مثبت و در یک مورد منفی بود. در بررسی سلولی CSF ارجحیت در دو مورد با لمفوسیت بود و فقط یک مورد میزان PMN بیشتر مشاهده شد. در 24 ساعت اولیه بیماری ممکن است میزان PMN بیشتر باشد که با سیر بیماری ارجحیت لمفوسیت ها بیشتر می شود. پس یافته فوق محتمل به نظر می رسد (19) در مطالعه زمانی نیز در CSF 80 درصد لمفوسیت مشاهده شد که با مطالعه ما که میزان 75 درصد ارجحیت لمفوسیتی داشت نزدیک است (2). تشخیص سریع مننژیت اهمیت زیادی داشته و از درمان نادرست جلوگیری می نماید (2 و 1). یافته های این مطالعه نیز بر اساس روش ملکولی که ضمن حساسیت و اختصاصیت، قطعیت تشخیص مننژیت اوریونی را به دنبال دارد استفاده شده است.

References

- 1- Asadi-Pooya AA, Ghaffari A, Sadeghi E. *The necessity of audiometric screening after mumps meningoencephalitis*. Iran J Infect Dis Trop Med. 2005; 10(31): 57-61. [in Persian]
- 2- Zamani A, Sharif M, Ferdosi R, Clinical. *Manifestations and complications of Mumps in children hospitals affiliated to Tehran University during the years 1993-97*. KAUMS Journal (FEYZ). 2001; 5 (1):77-81. [In Persian]
- 3- Pryzadh M, Hatami H. *Vaccine-preventable infectious diseases. A comprehensive book of public health*. Arjomand. Secretary. 1387: 1091-1087. Available from: http://www.elib.hbi.ir/persian/PUBLIC_HEALTH_EBOOK/CHAPTERS.pdf. [in Persian]
- 4- Razonable R. *Meningitis*. Emerg Infect Dis [serial online] 2010 Jun-Mar [cited 2010 Jun 9] <http://emmedicine.medscape.com/article/232915-overview>. Available from: Medscape.
- 5- Logan S, MacMahon E, *Viral meningitis*. [serial online] 2008 Jun-Mar [cited 2008 Jan 5];336:40-36. <http://www.bmj.com/content/336/7634/36.short>. Available from: BMJ.
- 6- Jacewicz M. *Aseptic Meningitis*. [serial online] 2009 Dec-Jan [cited 2009 Dec 9]; http://www.merckmanuals.com/professional/neurologic_disorders/meningitis/aseptic_meningitis.html?qt=aseptic_meningitis&alt=sh. Available from: Merck Manual.
- 7- Norbakhsh S, Tabatabayi A, Parvareh M. *Incidence Caytomogalo virus infection in the CSF of children with meningoencephalitis: the PCR*. Journal of Medicine, Tehran University of Medical Sciences. 2009 ; 66(10): 734-739.
- 8- Norbakhsh S, Tonwkaboni H, Asghayi M, Hoseyni F, Vajed L, Tabatabayi A. *Consider of herpes virus infections in children with aseptic meningoencephalitis were admitted to in Rasole akram and Mofid hospitals*. Iranian J of Medical Sciences,. 2004; 8: 659-666.
- 9- Read S, Kurtz B. *Laboratory Diagnosis of Common Viral Infections of the Central Nervous System by Using a Single Multiplex PCR Screening Assay*. Journal of clinical microbiology. 1999; 37(5): 1352-1355.
- 10- Hosseininasab A, Alborzi A, Ziyaeyan M, Jamalidoust M, Moeini M, Pouladfar G, Abbasian A, et al. *Viral etiology of aseptic meningitis among children in Southern Iran*. J Med Viral. 2011; 83(5):8-884. [in Persian]

- 11-Kermanian M, Bamdad T, Soleymanjahi H, Samiei SH. *Diagnosis of Enterovirus and Mumps Virus in CSF Samples of Patients with Aseptic Meningitis by RT-PCR Assay*. Shahed journals system. 2008; 16(76): 75-80. [in Persian]
- 12- Hosoyaa M, Honzumia K, Satoa M, Katayosea M, Katob K, Suzuki H. *Application of PCR for various neurotropic viruses on the diagnosis of viral meningitis*. Journal of Clinical Virology. 1999; 11(2):117-124.
- 13- Krause C, Eastick K, Ogilvie M. *Real-time PCR for mumps diagnosis on clinical specimens—Comparison with results of conventional methods of virus detection and nested PCR*. Journal of Clinical Virology. 2006; 37(3): 184-189.
- 14- Sasan M, Haji Shamsaei M. *Aseptic Meningitis after MMR Vaccination in Children of Mashhad*. Medical Journal of Mashad University of Medical Sciences. 2010; 53(3):16-168.
- 15- Maldonado Y. *Mumps*. In: *Nelson Textbook of Paediatrics*. 17th ed. Philadelphia: Saunders. 2004: 1035-36.
- 16- Hatamian B., Fahimzad A. *Aseptic meningitis in paediatrics: epidemiologic evaluation and cerebrospinal fluid changes*. Iranian Journal of Child Neurology. 2009; 3(2): 21-24.
- 17- Modarres S, Ghofrani M. *Acute aseptic Meningitis and Encephalitis with viral aetiology in children from Tehran*. Iranian Journal of Medical Sciences. 1997; 22(4-3): 98-94.
- 18 -Nowak DA, Boehmer R, Fuchs HH. *A retrospective clinical, laboratory and outcome analysis in 43 cases of acute aseptic meningitis*. European Journal of Neurology. 2003; 10 (3). P: 71-280.
- 19-Dean A, Mark M, DemitryA. *Cerebrospinal Fluid Analysis*. Am Fam Physician. 2003; 68(6):1103-1109.
- 20-Yaghini M, Fallahi R, Kargar Moakhar R Shafiei A, Sasani A. *Preparation of mumps hemagglutinin antigen is used in diagnostic laboratories and evaluation of its sensitivity and specificity compared with imported antigens*. Journal Pajouhesh And Sazandegi. 2008; 21(4): 73-77. [in Persian]