

بررسی ارتباط بین میزان آنتی بادی ضد ویروس سرخجه و دفعات بارداری

دکتر بهرام امینی (میکروبیولوژیست) - عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی استان زنجان

خلاصه

با توجه به اهمیت بروز ناهنجاریهای مادرزادی در نوزادان متولد شده از زنان مبتلا به ویروس سرخجه، تصمیم گرفته شد تا وضعیت ایمنی زنان در دفعات بارداری، مورد ارزیابی قرار گیرد. در طی این بررسی تعداد ۲۱۰ نمونه سرمی از زنان باردار مراجعه کننده به بیمارستان میرزا کوچک خان تهران جمع آوری و با روش الیزا مورد آزمایش قرار گرفتند. ابتدا موارد حساس و ایمن مشخص گردید و سپس تیتراژ آنتی بادی در زنان ایمن مورد ارزیابی قرار گرفت. از بین ۱۹۸ نفر (۹۴/۳٪) زن ایمن، ۴۹ نفر (۲۳/۳٪) دارای تیتراژ ۱:۱۶۰، ۸۴ نفر (۴۰/۳٪) دارای تیتراژ ۱:۶۴۰، و ۶۵ نفر (۳۱/۳٪) دارای تیتراژ ۱:۲۵۶۰ بودند. از نتایج بدست آمده از آنالیز آماری مشخص گردید که بین دفعات بارداری و تیتراژ آنتی بادی ارتباط معنی دار وجود دارد ($p=0.0119 < 0.5$). بدین معنی که با افزایش تعداد بارداری میزان تیتراژ آنتی بادی کاهش می یابد.

واژه‌های کلیدی:

ایران، زنجان، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی

1. Antibodies-Viral-immunology

2. Rubella-Vaccine-immunology

3. IgG-immunology

4. Rubella-Virus-immunology

5. Antibodies-Viral-Blood. 6. Virus-diseases-immunology.

7. Rubella-immunology.

8. IgG-analysis.

9. Antibodies-Viral-analysis. 10. Rubella-microbiology.

11. Rubella-vaccine-administration and dosage. 12. Enzym-linked-immunosorbent

مقدمه:

جبران ناپذیری در جستین می باشد، لذا آگاهی از وضعیت ایمنی زنان در مراحل و مقاطع گوناگون زندگی از اهمیت ویژه ای برخوردار است. از آنجائیکه هیچگونه اطمینانی از تداوم ایمنی در مقاطع مذکور وجود نداشته و عوامل گوناگونی می توانند آن را دستخوش تغییر نمایند لذا تصمیم بر این شد که وضعیت ایمنی در دفعات بارداری مورد ارزیابی قرار گیرد. هدف اصلی از این بررسی این بود که آیا زنانی که در اولین بارداری خود ایمن شناخته می شوند، این وضعیت را در بارداریهای بعدی نیز حفظ می کنند یا خیر.

نوع مطالعه:

در این بررسی روش مطالعه بصورت توصیفی -

بیماری سرخجه یکی از بیماریهای عفونی با منشأ ویروسی است که اثر آن در ایجاد ناهنجاریهای مادرزادی خصوصاً در سه ماه اول بارداری مهم می باشد.

در همین راستا اقدامات مختلفی در زمینه پیشگیری از این قبیل ناهنجاریها در ممالک مختلف صورت گرفته است. مهمترین اقدامات انجام شده شامل بررسی وضعیت ایمنی زنان در سنین و وضعیتهای مختلف زندگی، شناسایی افراد حساس و ایمن سازی آنها می باشد، تا از این طریق بتوان فرصت مناسب برای فعالیت ویروس را در زنان باردار از بین برد.

هدف:

ویروس بیماری سرخجه قادر به ایجاد ناهنجاریهای

مقطعی می باشد (۳).

مواد و روش کار:

در این بررسی از روش الیزا جهت اندازه گیری میزان آنتی بادی اختصاصی ضد ویروس سرخچه (IgG) استفاده شد و کیت هایی که تهیه و مصرف گردید Enzygnost Rubella ساخت شرکت Behring آلمان بود.

اساس کار در این روش این است که ابتدا آنتی بادی ضد ویروس سرخچه موجود در نمونه به آنتی ژن واقع در پلیت آزمایش متصل می شود، سپس این کمپلکس با آنزیم کنژوگه واکنش نموده و پس از اضافه کردن محلول سوبسترا، رنگ زرد مایل به سبز که ناشی از تجزیه آنزیمی است ظاهر می شود.

در این بررسی تعداد ۲۱۰ نفر از زنان باردار بصورت غیر احتمالی سهمیه ای انتخاب و پس از خونگیری سرم آنها جدا و منجمد گردید، سپس سرم های مزبور از لحاظ وضعیت ایمنی توسط روش الیزا ارزیابی شد. ابتدا کلیه مواد از قبیل بافر رقیق کننده، آنزیم کنژوگه و محلول سوبسترا از یخچال خارج و مدتی در حرارت آزمایشگاه قرار داده شد، سپس چاهک های موجود در پلیت را با نمونه سرمی رقیق شده و سرم کنترل پر کرده و به مدت ۱ (۵+ دقیقه) در محفظه مرطوب و ۳۷ درجه سانتیگراد قرار دادیم. پس از اتمام زمان مذکور، کلیه چاهک ها را تخلیه و آنها را با حداقل ۰/۲ میلی لیتر محلول شستشوی رقیق پر کرده و پس از ۱-۲ دقیقه خالی کردیم، این عمل شستشو دو بار تکرار و سپس به هر چاهک ۰/۰۵ ml از آنزیم کنژوگه اضافه و مدت یک ساعت در همان شرایط قرار

دادیم، پس از یک ساعت با همان روش فوق دوبار عمل شستشو صورت گرفته و آنگاه مقدار ۰/۱ ml از محلول سوبسترا به هر یک از چاهک های واقع در پلیت اضافه شده، پس از ۳۰ دقیقه قرار گرفتن در ۳۷ درجه سانتیگراد واکنش را بوسیله اضافه نمودن ۰/۰۵ ml محلول متوقف کننده، متوقف کردیم. در خاتمه واکنش، رنگ زرد مایل به سبز در ظرف، کمتر از ۱ ساعت ارزیابی می شد.

پس از تعیین افراد حساس و ایمن، مقدار تیر آنتی بادی در افراد ایمن مورد ارزیابی قرار گرفت. بمنظور تعیین تیر آنتی بادی، ابتدا مقدار ۰/۱۵ ml از بافر رقیق کننده را به یک ردیف از چاهک های پوشیده شده با آنتی ژن و یک ردیف آنتی ژن کنترل اضافه نموده و سپس ۰/۰۵ ml از یک رقت سرمی مناسب نمونه، به چاهک اول در هر ردیف اضافه کردیم، پس از آن مقدار ۰/۰۵ میلی لیتر محلول موجود در همان چاهک را به چاهک های بعدی واقع در همان ردیف منتقل و یک سریال رقتی ۴ برابر تهیه و در خاتمه ۰/۰۵ از ترکیب مزبور از چاهک آخر تخلیه می شد. نتایج با تعیین مقدار ابزوربنس (Absorbance) موجود در چاهک های آنتی ژن و آنتی ژن کنترل در رقت مورد آزمایش، و تفریق این دو از یکدیگر به دست آمد.

اختلاف ابزوربنس به شکل زیر مورد ارزیابی قرار گرفت:

$A < 0.2$ Negative

$A > 0.3$ Positive

در اندازه گیری کمی، تیر آنتی بادی را می توان به دو صورت چشمی و فتومتری انجام داد. روش فتومتری از

ولی خطر عمده ناشی از این بیماری، بروز نقایص جنینی در زنان باردار مبتلا به سرخچه می باشد، در نتیجه عمده توجه دانشمندان در جهت شناسایی و ایمن سازی افراد حساس خصوصاً دختران و زنان جوانی که در سنین باروری هستند می باشد.

چون شرایطی از قبیل تراکم جمعیت جغرافیایی، وضعیت اقتصادی و بهداشت تأثیر بسزایی در میزان افراد ایمن و حساس دارد، لذا هر کشوری بطور جداگانه بایستی مطالعات سرو اپیدمیولوژیک خود را انجام و پس از شناسایی این افراد، جهت ایمن سازی آنها برنامه ریزی لازم و مناسب را ارائه دهد.

در اغلب مطالعات سرواپیدمیولوژیک که در ممالک مختلف دنیا انجام شده، تیتراژ کمتر از ۱۰-۸ (معادل ۱:۴۴ روش الیزا) تیتراژ منفی و حساس نسبت به ویروس سرخچه محسوب شده و آنرا نشانه عدم تماس با ویروس سرخچه می دانند همچنین بررسیهای سرولوژیک نشان داده است، افرادی که دارای تیتراژ کمتر از ۱۰-۸ بودند نسبت به عفونت سرخچه ایمنی نداشته اند و در بروز اپیدمی سرخچه با این ویروس آلوده و بیمار شدند.

در مطالعات سرواپیدمیولوژیک انجام شده در کشورهای آسیایی میزان مصونیت در زنان ۱۷-۳۵ ساله در کویت ۹۵٪ (۴)، در بحرین در دختران ۱۹-۱۶ ساله ۹۰-۸۰٪ (۵)، در مصر در زنان ۴۰-۱۵ ساله ۹۲٪ (۶)، در هندوستان در زنان باردار ۹۴٪ (۷)، در زنان باردار چین ۹۱٪ (۸) و در زنان باردار شوروی ۹۸٪ می باشد (۹).

در طی این بررسی که بر روی زنان باردار در گروههای سنی ۴۴-۱۵ ساله صورت گرفت، ۹۲٪ آنها نسبت به ویروس سرخچه ایمن بودند، همچنین ارتباط معنی داری بین تیتراژ آنتی بادی زنان ایمن و تعداد دفعات بارداری نیز مشاهده شد. از طرفی مطالعات انجام شده حاکی از این است که زنانی که دارای تیتراژ پائین

حساسیت بیشتری برخوردار بوده و در این بررسی نیز مورد استفاده قرار گرفت. زمانی که اختلاف ایزوربیس برابر با ۰/۲ باشد به عنوان تیتراژ آنتی بادی مورد نظر تلقی می گردد.

نتایج:

در این بررسی که بر روی ۲۱۰ زن باردار در گروههای سنی ۴۰-۱۵ سال صورت گرفت میزان ایمنی و حساسیت آنها با اندازه گیری IgG اختصاصی ضد ویروس سرخچه توسط سیستم الیزا مشخص گردید. از ۲۱۰ زن باردار تعداد ۱۲ نفر (۵/۷٪) حساس و ۱۹۸ نفر (۹۴/۳٪) ایمن به ویروس سرخچه بودند.

فراوانی تیتراژ آنتی بادی اندازه گیری شده عبارتند از:

۱:۲۵۶۰ ۳۲/۸٪	۱:۶۴۰ ۴۲/۴٪	۱:۱۶ ۲۴/۷٪
-----------------	----------------	---------------

سپس فراوانی این تیتراژ در گروههای سنی مختلف تعیین و نتایج آن در جدول و نمودار شماره ۵ نشان داده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده میتوان چنین استنباط کرد که با افزایش تعداد بارداری میزان تیتراژ آنتی بادی نیز کاهش می یابد. به منظور پی بردن به وجود هر گونه ارتباط بین دفعات بارداری و میزان تیتراژ آنتی بادی آنالیز آماری انجام شد و مشخص گردید که بین دفعات بارداری و تیتراژ آنتی بادی ارتباطی معنی دار وجود دارد ($P=0.0119<0.5$).

میزان همبستگی این دو متغیر نیز بررسی شد و مشخص گردید که بین دفعات بارداری و تیتراژ آنتی بادی همبستگی منفی وجود دارد، بدین معنی که با افزایش تعداد دفعات بارداری میزان تیتراژ آنتی بادی نیز کاهش می یابد.

بحث و پیشنهاد:

سرخچه از جمله بیماریهای عفونی ویروسی است که بروز آن در اطفال و یا بالغین معمولاً با وخامت علائم بالینی همراه نبوده و در برخی از مواقع نیز بدون بروز علائم و حتی غیر قابل تشخیص می باشد،

آنتی بادی بر علیه ویروس سرخچه هستند، شانس ابتلاء مجدد در آنها وجود دارد (۱ و ۲)، لذا به منظور کاهش میزان ابتلاء این افراد به عفونت مجدد به نظر می رسد که اعمال روشهای ذیل تا حدودی راه گشای این مشکل باشد:

واکسیناسیون آنها.
۳- اگر فرد تصمیم به بارداری مجدد دارد تیتراژ آنتی بادی آنها اندازه گیری و در صورت پائین بودن مجدداً واکسینه شوند.
در نهایت امید است با تحقیقات و مطالعات بیشتر در این زمینه بتوان از بروز ضرر و زیانهای جانی و مالی ناشی از این بیماری جلوگیری نمود.

۱- واکسیناسیون افراد حساس در موقع ازدواج.

۲- شناسایی افراد حساس قبل از بارداری و

جدول شماره ۱- در این جدول فراوانی سنی زنان باردار به فواصل ۵ سال مشخص شده است. بیشترین و کمترین فراوانی سنی به ترتیب در گروههای ۲۰-۲۴ (۳۶/۲٪) و ۴۰-۴۴ (۰/۵٪).

گروه سنی بر حسب سال	۱۵-۱۹	۲۰-۲۴	۲۵-۲۹	۳۰-۳۴	۳۵-۳۹	۴۰-۴۴
فراوانی درصد	۲۵ (۱۱/۹)	۷۶ (۳۶/۲)	۶۶ (۳۱/۴)	۲۴ (۱۱/۴)	۱۸ (۸/۶)	۱ (۰/۵)

جدول شماره ۲- در این جدول میزان فراوانی ایمنی مشخص شده است. از ۲۱۰ زن باردار تعداد ۱۲ نفر (۵/۷٪) حساس و ۱۹۸ نفر (۹۴/۳٪) ایمن به سرخچه بودند.

وضعیت ایمنی	ایمن	غیر ایمن
فراوانی درصد	۱۹۸ (۹۴/۳)	۱۲ (۵/۷)

جدول شماره ۳- در این جدول میزان فراوانی تیتر آنتی بادی اختصاصی ضد ویروس سرخجه مشخص شده است.

تیتر	۱:۱۶۰	۱:۶۴۰	۱:۲۵۶۰
فراوانی	۴۹	۸۴	۶۵
درصد	(۲۴/۷)	(۴۲/۴)	(۳۲/۸)

جدول شماره ۴- در این جدول فراوانی تعداد بارداری مشخص شده است. بیشترین و کمترین فراوانی تعداد بارداری به ترتیب ۱ بار (۴۶/۲٪) و ۸ بار (۰/۵٪) می باشد.

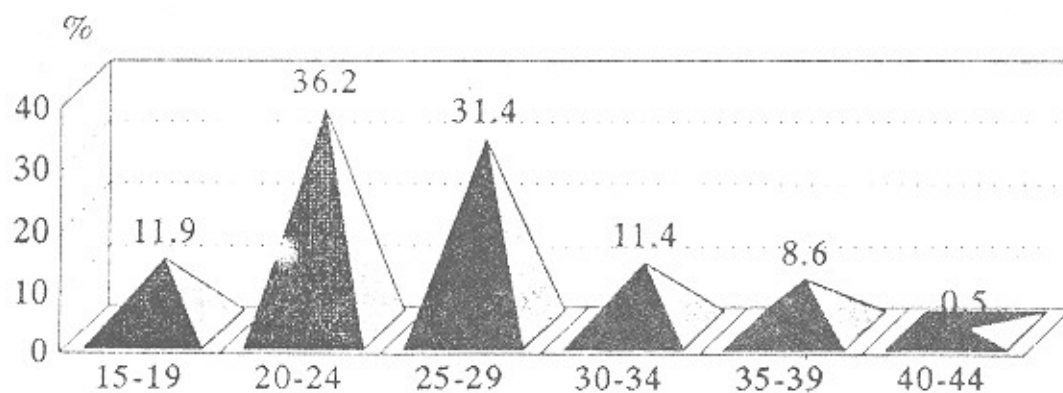
تعداد بارداری	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
فراوانی	۹۷	۵۳	۲۶	۲۱	۴	۴	۴	۱
درصد	(۴۶/۲)	(۲۵/۲)	(۱۲/۴)	(۱۰)	(۱/۹)	(۱/۹)	(۱/۹)	(۰/۵)

جدول شماره ۵- در این جدول میزان فراوانی تیتراژ آنتی بادی ضد سرخجه در تعداد بارداری مشخص شده است. بیشترین و کمترین درصد فراوانی تیتراژ ۱:۱۶۰ به ترتیب ۷/۱٪ و ۵/۰٪، برای تیتراژ ۱:۶۴۰ به ترتیب ۱۸/۷٪ و ۰٪ و برای تیتراژ ۱:۲۵۶۰ به ترتیب ۷/۱٪ و ۰٪ می باشد. بین تیتراژ آنتی بادی ضد سرخجه و بارداری ارتباط معنی دار وجود دارد.

تعداد بارداری تیتراژ	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	جمع کل
۱:۱۶۰ درصد	۱۳ (۶/۶)	۱۴ (۷/۱)	۸ (۲)	۷ (۳/۵)	۱ (۰/۵)	۳ (۱/۵)	۲ (۱)	۱ (۰/۵)	۲۹ (۲۲/۷)
۱:۶۴۰ درصد	۳۷ (۱۸/۷)	۲۲ (۱۱/۱)	۸ (۲)	۱۲ (۶/۱)	۲ (۱)	۱ (۰/۵)	۲ (۱)	۰	۸۴ (۲۲/۲)
۱:۲۵۶۰ درصد	۲۲ (۲۱/۲)	۱۴ (۷/۱)	۷ (۳/۵)	۲ (۱)	۰	۰	۰	۰	۶۵ (۳۲/۸)
جمع	۷۲ (۲۴/۵)	۵۰ (۲۵/۳)	۲۳ (۱۱/۶)	۲۱ (۱۰/۶)	۳ (۱/۵)	۴ (۲)	۴ (۲)	۱ (۰/۵)	۱۹۸ (۱۰۰)

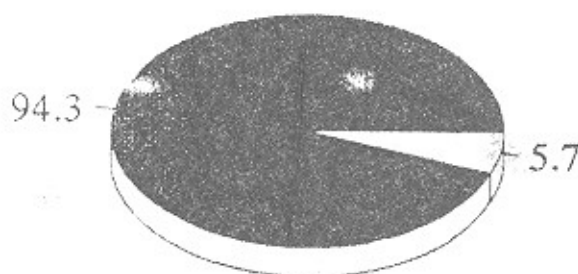
نمودار ۱- فراوانی سنی

AGE

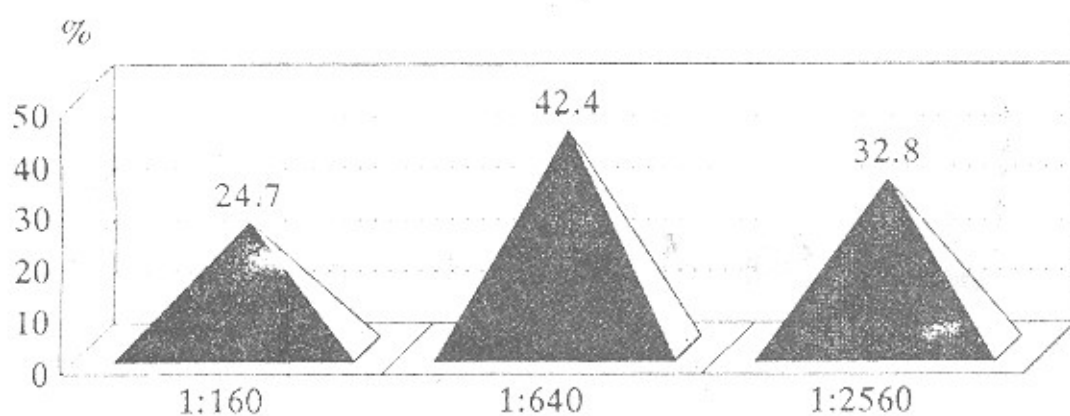


▲ AGE GROUP

نمودار ۲ - فراوانی ایمنی

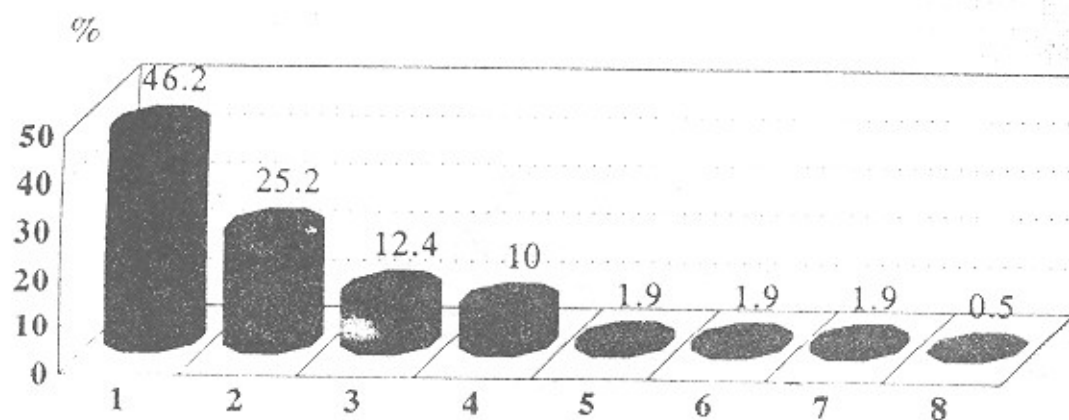
IMMUNITY

نمودار ۳ - فراوانی تیتراژ آنتی بادی ضد سرخجه

ANTIBODY TITER

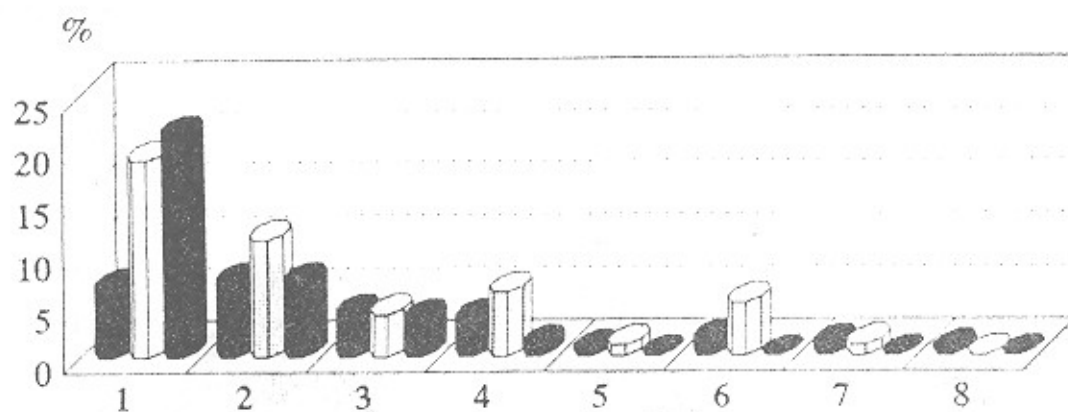
▲ Ab.TITER

نمودار ۴ - فراوانی تعداد بارداری

PREGNANCY NUMBER

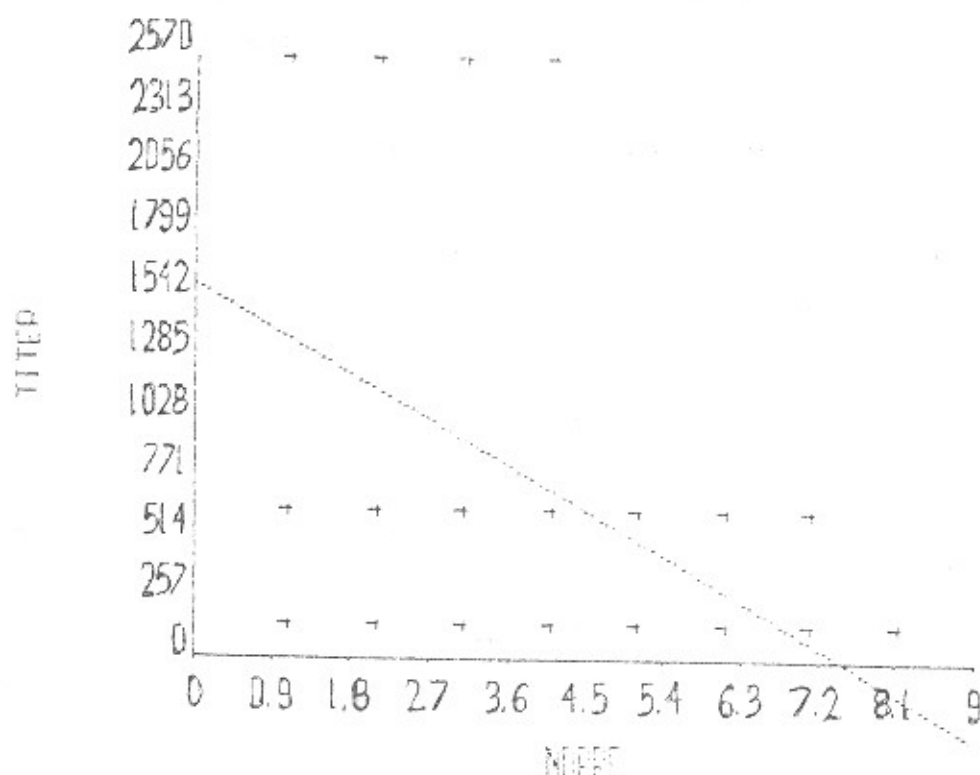
■ PRE. NO.

نمودار ۵ - فراوانی تیتراژ ضد سرخجه در تعداد بارداری

TITER & PREGNANCY NO.

■ 1:160 □ 1:640 ■ 1:2560

رگوسیون بین تیتراژ آنتی بادی و دفعات بارداری



REFERENCES:

1. Mandell, G.L., Douglas, G.R., Bennett, E.J.: Principles and Practice of Infectious Diseases. 3rd. ed, 1990.
2. Das, B.D., Lakhani, P.: Congenital Rubella after previous maternal immunity. Arch. Dis. Child. 65(5). 545-6; 1990.
3. زعیم، مرتضی (ویراستار): تحقیق در سیستم بهداشتی، (ترجمه گروه مترجمین از کتابی با همین عنوان از انتشارات سازمان بهداشت جهانی)، تهران، انتشارات وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، معاونت پژوهشی، ۱۳۶۹.
4. Houthout, H., Hazel, L., et al.: Seroepidemiology of Rubella in Kuwait: Intern. J. Epidemiol. 7:49; 1979.
5. Dutta, S.R., et al.: Seroepidemiology of Rubella in Bahrain. Intern. J. Epidemiol. 14:618; 1985.
6. Younes, A.T., Elian, A.: Rubella virus Ab. in Woman of childbearing age. J. Egypt. public. Health. Assac. 66(3-4):397-410; 1991.
7. Baskaram, P., Ramalakshmi, B.A.: Need for Protection against Rubella in India. Indian- J. Pediatr. 58(6):811-4; 1991.
8. Yue, J.: Sero-epidemiological Survey of Virus infections in pregnant Woman of the changchun district. chung- hua- Fu-chan-ko-isa-chih. 25(5):269-1, 318; 1990.
9. Kantorovic, R.A., Valodina, N.I., et al.: Congenital Rubella in the U.S.S.R. Bull. W.H.O. 57:445; 1979.