تشخیص عفونت اولیه از عفونت مجدد سرخجه در زنان بارداری که در واکسیناسیون عمومی سرخک- سرخجه در آذر ماه ۱۳۸۲ بطور اتفاقی واکسینه شده اند

رسول همکار[۱], محبوبه حاجی عبدالباقی[۲], سمیه جلیلوند[۱], محمد مهدی گویا[۳], عبدالرضا استقامتی[۳], محسن زهرایی[۳], عبدالرسول اکبریان[۴], حمید عمادی کوچک[۲], کرامت نوری جیلانی[۱], طلعت مختاری آزاد[۱] و رخشنده ناطق[۱]

چکیده: عفونت اولیه سرخجه در دوران بارداری بویژه در سه ماهه اول به جنین منتقل می شود و عوارض شدیدی را در جنین سبب می گردد, ولی عفونت مجدد حتی در سه ماهه اول خطری را برای جنین در پی ندارد. سالانه بیش از ۱۰۰ هزار مورد سرخجه مادرزادی در جهان اتفاق می افتد. بنابراین واکسیناسیون سرخجه برای جلوگیری از بروز سندرم سرخجه مادرزادی اهمیت پیدا می کند. واکسیناسیون سرخجه در زنان باردار انجام نمی گیرد, زیرا علیرغم اینکه تا کنون هیچ موردی از سرخجه مادرزادی در اثر واکسیناسیون گزارش نشده است, هنوز تعداد نمونه های بررسی شده به اندازه ای نیست که بتوان احتمال خطر تئوریک را کاملا نادیده گرفت. در مطالعه حاضر پاسخ ایمنی ۸۱۰ نمونه از زنان بارداری که در واکسیناسیون عمومی سرخک/سرخجه بطور اتفاقی واکسن MR دریافت کرده بودند- بر علیه سویه واکسن ویروس سرخجه مورد بررسی قرار گرفت و با استفاده از Anti-rubella IgG avidity assay بین عفونت اولیه و عفونت مجدد حاصل از واکسیناسیون تشخیص افتراقی انجام گرفت. علاوه بر این حساسیت, ویژگی, ارزش اخباری مثبت و منفی تست Anti-rubella IgM EIA در مقایسه با Anti-rubella IgG avidity assay مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته های پژوهش حاضر نشان می دهند ۱۴/۴٪ موارد یک عفونت اولیه و ۸۵/۶٪ موارد عفونت مجددی را با سوش واکسن تجربه کرده بودند. حساسیت تستIgM EIA ۷۹/۶٪ , ویژگی آن ۹۹/۷٪ , ارزش اخباری مثبت ۹۷/۶٪ و ارزش اخباری منفی تست ۹۶/۴٪ بدست آمد. این پژوهش نشان می دهد Anti-Rubella IgM EIA روش مناسبی برای تشخیص افتراقی بین عفونت اولیه و مجدد نیست چون در بسیاری از موارد عفونت ثانویه IgM تولید می شود و در عین حال در برخی موارد عفونت اولیه نیز IgM مورد شناسایی واقع نمی شود. بنابراین در موارد پر اهمیت مانند مورد زنان باردار و بیمار یابی در زمان حذف ویروس سرخجه تستهای سرولوژیک مانند IgM EIA به تنهایی کار آمد نخواهد بود و استفاده از روش IgG Avidity Assay منطقی به نظر می رسد.

مقدمه

عفونت با ویروس سرخجه در کودکی و بزرگسالی, معمولا ملایم و حتی در بیشتر موارد بدون علامت است، اما عفونت جنین در حال رشد به ویژه در سه ماهه اول بارداری عوارض شدیدی را ایجاد می کند. عفونت اولیه سرخجه در مادر به ویژه در سه ماهه اول بارداری می تواند به جنین منتقل شود و جنین را در داخل رحم به عفونت سرخجه مبتلا سازد(۱). این عفونت می تواند منجر به سقط جنین ، تولد نوزاد نارس و یا تولد نوزاد با سندرم سرخجه مادرزادی Congenital Rubella Syndrome شود. شایع ترین تظاهرات سندرم سرخجه مادرزادی کری ، آب مروارید ، گلوکوما ، ناهنجاریهای قلبی و عقب افتادگی ذهنی است(۲).

بروز سرخجه مادرزادی در جمعیت های مختلف متغیر است و به عواملی مانند میزان جمعیت حساس و میزان گردش ویروس در جامعه بستگی دارد. سالانه بیش از ۱۰۰ هزار مورد CRS در جهان اتفاق می افتد ، بنابراین واکسیناسیون سرخجه برای جلوگیری از بروز سندرم سرخجه مادرزادی اهمیت پیدا می کند. سازمان بهداشت جهانی برای جلوگیری از بروز عفونت سرخجه مادرزادی دو روش پیشنهاد می کند. در روش اول برای جلوگیری از CRS ایمن سازی دختران

[1]- دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی , دانشگاه علوم پزشکی تهران، **Ph.D** ویروس شناسی
[2]- بیمارستان امام خمینی , دانشگاه علوم پزشکی تهران
[3]- مرکز مدیریت بیماریها
[4]- بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص) , دانشگاه علوم پزشکی ایران

CRS از طریق واکسیناسیون جهانی کودکان و پایش ایمنی زنان در سنین بارداری توصیه می گردد(۳). سازمان بهداشت جهانی برای واکسیناسیون ویروس سرخجه برای کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه برنامه های متفاوتی را دارد. درکشورهای توسعه یافته یک دوز واکسنMMR در ۱۸-۱۲ ماهگی , یک دوز دیگر در ۱۲-۴ سالگی و واکسیناسیون نوجوانان و بزرگسالان در هر فرصت مناسبی پیشنهاد می نماید. اما در کشورهای در حال توسعه, یک دوز واکسن MR یا MMR در ۱۲-۹ ماهگی ، واکسیناسیون همگانی کودکان ۱۴-۱ سال و واکسیناسیون زنان نوجوان و بزرگسال با MR یا MMR به منظور افزایش ایمنی جهانی توصیه می گردد(۴). در حال حاضر سویه RA27/3 بصورت گسترده ای در سراسر جهان برای واکسن استفاده می شود. واکسن سرخجه به سه شکل واکسن سرخجه تنها ، واکسن سرخجه همراه با سرخک یا اوریون MR و واکسن سرخجه همراه با سرخک و اوریون MMR تجویز می گردد(۵).

در ایران میزان بروز CRS مشخص نیست، اما مطالعات بالینی نشان می دهند که سندرم سرخجه مادرزادی اتفاق می افتد. در یک بررسی در تهران سهم سرخجه مادرزادی در ایجاد ناشنوایی کودکان ۱۲٪ برآورد شده است(۶).

واکسیناسیون سرخجه در زنان باردار انجام نمی گیرد ، زیرا از نظر تئوریک هنوز امکان تاثیرات زیان آور بر روی جنین کاملا رد نشده است(۲), ولی در عین حال تاکنون هیچ موردی از CRS در اثر واکسیناسیون سرخجه در این گروه از افراد گزارش نشده است(۷).

در واکسیناسیون عمومی اخیر سرخک - سرخجه , علیرغم اعلام ممنوعیت واکسیناسیون در زنان باردار , گروهی از زنان که قبل از واکسیناسیون باردار شده بودند و با توجه به اینکه در ماه اول بارداری بسیاری متوجه بارداری خود نمی شوند واکسن MR دریافت کردند. گروهی نیز علیرغم توصیه های موکد مبنی بر باردار نشدن , پس از واکسیناسیون باردار شدند.

با توجه به مطالعات پیشین بخش قابل توجهی از جمعیت واکسینه قبل از واکسن در برابر سرخجه ایمنی دارند و واکسن به منزله یک عفونت مجدد موجب پاسخ ثانویه ایمنی در آنها می گردد و بقیه جمعیت عفونت اولیه را با سویه واکسن تجربه نمودند. در این مطالعه به منظور تفکیک این دو گروه از هم وضعیت ایمنی زنان باردار در برابر سرخجه مورد بررسی قرار گرفت و با استفاده از روشهای سرولوژیک Anti-Rubella IgM EIA وAnti-Rubella IgG avidity assay بین عفونت اولیه و عفونت مجدد سرخجه با ویروس واکسن تشخیص افتراقی انجام گرفت.

Anti-Rubella IgM EIA روش مناسبی برای تشخیص افتراقی بین عفونت اولیه و ثانویه نیست چون در بسیاری از موارد عفونت ثانویه IgM تولید می شود و در عین حال در برخی موارد عفونت اولیه نیز IgM مورد شناسایی واقع نمی شود (۹-۸). قابلیت های بالای IgG avidity assay در تشخیص افتراقی میان عفونت اولیه و ثانویه در پژوهشهای متعددی نشان داده شده است(۱۱-۸). لذا در این پژوهش روش IgM EIA در مقایسه با روش IgG avidity assay مورد ارزیابی قرار گرفت. حضور low avidity IgG بیانگر عفونت اولیه است حتی اگر IgM منفی باشد ، در حالیکه High avidity IgG حاکی از ایمنی قبلی و یا نشانگر عفونت مجدد در اثر واکسن سرخجه می باشد حتی اگر IgM شناسایی شود (۱۰).

مواد و روشها:

گروه مورد مطالعه : زنان بارداری که در اوایل بارداری در واکسیناسیون عمومی سرخک- سرخجه بدون اطلاع از بارداری واکسن MR دریافت کردند و زنانی که در مدت کوتاهی پس از واکسیناسیون علیرغم توصیه های موکد مبنی بر باردار نشدن باردار شدند.

تعداد نمونه: سالانه یک میلیون تولد در ایران گزارش می شود , بنابراین در طول یکماه حدود ۸۳۴۰۰ مورد کودک متولد می شوند. و با توجه به اینکه سن بارداری تقریبا بین ۴۵-۱۵ سال است اگر سن بارداری را به سه قسمت تقسیم کنیم در گروه سنی ۲۵-۱۵ سال در طول یک ماه تقریبا

۳۰۰۰۰ بارداری روی می دهد. بررسی ها نشان می دهند که یک ماه بعد از واکسیناسیون برای بارداری مانعی وجود ندارد و با توجه به اینکه معمولا یک ماه بعد از حاملگی بانوان از حاملگی خود مطلع هستند, بنابراین جمعیت مورد بررسی مجموع بارداری های دو ماه (یک ماه قبل از واکسن و یک ماه بعد از واکسن) خواهد بود. و با توجه به اینکه احتمال تئوریک ۱/۳٪ بروز ناهنجاری در اینگونه بارداریها وجود دارد ، با حدود اطمینان ۹۹/۹٪ تعداد ۸۱۱ نمونه برای بررسی انتخاب گردید. در عمل از تمام مراجعین به بیمارستانهای رسول اکرم و امام خمینی و مراکز بهداشت تحت پوشش مرکز مدیریت بیماریها که به منظور بررسی مشکل بارداری قبل و یا بعد از واکسیناسیون سرخجه به آن مراکز مراجعه کرده بودند , نمونه گیری به عمل آمد و ۸۱۰ نمونه در طول ۱۶-۳ هفته پس از اتمام واکسیناسیون جمع آوری شد. با توجه به اینکه از ماه چهارم به بعد بلوغ اویدیتی IgG به مرحله ای می رسد که آنتی بادی IgG را در گروه High Avidity قرار می دهد, لذا نمونه گیری بعد از گذشت سه ماه ادامه داده نشد.

Anti-rubella IgM EIA: بر روی تمام نمونه های سرم, آزمایش شناسایی IgM با استفاده از کیت تجاری Enzygnost Anti-Rubella-Virus/IgM (Dade Behring, Marburg, Germany) طبق راهنمای عملی کیت انجام گرفت.

Anti-rubella IgG Avidity assay: همه نمونه ها با روش سنجش اویدیتی IgG و با استفاده از کیت تجاری Enzygnost Anti-Rubella-Virus/IgG (Dade Behring , Marburg , Germany) مورد بررسی قرار گرفتند. برای هر نمونه سرم چهار چاهک از پلیت الایزا اختصاص داده شد. پس از تشکیل کمپلکس آنتی ژن/ آنتی بادی دو چاهک اول هر نمونه با بافر شستشو و دو چاهک دوم هر نمونه با ماده دناتوره کننده دی اتیل آمین ۳۵ میلی مولار (DEA به بافر شستشوی کیت اضافه گردید) به مدت ۵ دقیقه مجاور گردیدند و این عمل دو بار تکرار شد و بقیه مراحل طبق راهنمای عملی کیت انجام گرفت و میزان چگالی نوری (OD) هر دو چاهک با EIA Reader خوانده شد و اویدیتی با فرمول زیر محاسبه گردید(۱۲) :

$$Avidity = \frac{OD\ of\ wells\ soaked\ with\ DEA}{OD\ of\ wells\ soaked\ with\ washing\ buffe} \times 100$$

میزان اویدیتی بدست آمده در مقایسه با Cut off point وضعیت اویدیتی نمونه ها را مشخص می نماید.

محاسبه Cut off Point :

برای محاسبه Cut off point از دوگروه نمونه سرم که وضعیت Anti-rubella IgG avidity آنها از قبل روشن بود بعنوان پانلهای Low Avidity anti-rubella IgG (LA) و High Avidity anti-rubella IgG (HA) استفاده گردید.

۱- پانل Low Avidity IgG : ۲۰۸ سرم از افراد ۲۵-۵ سال که قبل از دریافت واکسن، سرم منفی یا حساس به ویروس سرخجه بودند.

۲- پانل High Avidity IgG : ۲۳۴ سرم از افراد ۲۵-۵ سال که قبل از دریافت واکسن سرم مثبت یا ایمن به عفونت با ویروس سرخجه بودند.

با روش IgG avidity assay که در بالا توضیح داده شد, نمونه های سرم هر دو پانل مورد آزمایش قرار گرفتند. با روش CART (Classification and Regression Tree) و با استفاده از نرم افزار SPLUS دو پانل بر اساس OD باقیمانده مجددا رده بندی شدند. با این روش که بدون هیچگونه Miss classification error انجام شد, مرز بین اویدیتی بالا و پائین (Cut off point = ۵۳/۵۵) مشخص گردید(۱۳). بوسیله آزمون Roc Curve در نرم افزار SPSS حساسیت و ویژگی آزمون مورد ارزیابی قرار گرفت و نشان داده شد در Cut off point = ۵۳/ ۵۵ بالاترین ویژگی و حساسیت قابل تصور است.

آنالیزهای آماری : نتایج بدست آمده با استفاده از نرم افزار EPI 2000 (version 3.2) مورد پردازش قرار گرفت و تفاوتها با استفاده از تستهای X^2 و Fisher مورد آزمون قرار گرفتند.

نتایج:

در این مطالعه ۸۱۰ نمونه سرم از زنان بارداری که در واکسیناسیون عمومی سرخک- سرخجه در آذر ماه ۱۳۸۲ واکسن MR دریافت کرده بودند ، مورد بررسی قرار گرفتند. از کل ۸۱۰ نمونه سرم ۱۱۷ مورد (۱۴/۴ درصد) دارای LA Anti-rubella IgG بودند در حالیکه در۶۷۹ مورد (۸۵/۶ درصد) HA Anti-rubella IgG مشاهده گردید. این نشان می دهد که در جمعیت مورد مطالعه ۱۴/۴ درصد افراد در برابر

در گروه غیر ایمن (LA Anti-rubella IgG) ۹۰ مورد (۷۶/۹ درصد) دارای IgM بودند در حالیکه در۲۷ مورد (۲۳/۱درصد) تست IgM EIA نتوانست عفونت اولیه را تشخیص دهد و این نشان می دهد که تست IgM EIA برای نشان دادن عفونت اولیه از حساسیت کافی برخوردار نیست (۷۶/۹درصد). در بین گروه ایمن(HA Anti-rubella IgG), در ۶۹۱ مورد (۹۹/۷ درصد) IgM اختصاصی سرخجه شناسایی نشد درحالیکه در۲ مورد (۰/۳درصد) IgM اختصاصی سرخجه مشاهده شد (نمودار ۱). نتایج نشان می دهند که ویژگی تست Anti-rubella IgM EIA از میزان مطلوبی برخوردار است (۹۹/۷٪) و این تست موارد منفی را درست شناسایی می کند(جدول های ۱و ۲).

در گروه سنی زیر بیست سال غیر ایمن ۳۸ نمونه (۸۲/۶ درصد) دارای IgM بودند در حالیکه ۸ مورد (۱۷/۴درصد) فاقد IgM اختصاصی سرخجه بودند یعنی تست IgM EIA در این موارد نتوانسته است عفونت اولیه را تشخیص دهد. این در حالی است که در بین گروه سنی زیر بیست سال ایمن همه ۱۶۹ نمونه (۱۰۰ درصد) از نظر IgM اختصاصی سرخجه منفی شناسایی شدند(جدول شماره ۳). وضعیت مشابهی در افراد گروه سنی بالای بیست سال نیز مشاهده می شود. در افراد غیر ایمن این گروه ۵۲ نمونه (۷۳/۲درصد) دارای IgM بودند در حالیکه ۱۹ نمونه (۲۶/۸ درصد) فاقد IgM اختصاصی سرخجه بودند و در این موارد نیز تست IgM نتوانست عفونت اولیه را تشخیص دهد در حالیکه در بین گروه ایمن این گروه سنی, در ۵۲۲ مورد (۹۹/۶ درصد) IgM اختصاصی سرخجه شناسایی نشد و در ۲ نمونه (۰/۴درصد) IgM شناسایی شد(جدول ۳).

بررسی حاضر نشان می دهد که نسبت افراد غیر ایمن در گروه سنی کمتر از ۲۰ سال در مقایسه با گروه سنی بیشتر از ۲۰ سال ، به مراتب بیشتر است. بر اساس این پژوهش میزان عفونت اولیه با سویه واکسن در گروه سنی زیر ۲۰ سال ۲۱/۴ درصد و میزان عفونت مجدد با ویروس واکسن ۷۸/۶ درصد بود, در حالیکه در گروه سنی بالای ۲۰ سال ۱۱/۹ درصد موارد عفونت اولیه و ۸۸/۱ درصد باقیمانده عفونت مجددی را با واکسن تجربه می کردند(جدول ۳), این تفاوت از نظر آماری معنی دار می باشد ($p = ۰/۰۰۰۶۵$) و نشان می دهد که میزان ایمنی حاصل از عفونت طبیعی سرخجه با افزایش سن در جامعه افزایش می یابد.

همچنین پژوهش حاضر نشان می دهد که بین دو گروه ایمن و غیر ایمن بر حسب پاسخ IgM و فاصله زمانی بین دریافت واکسن تا نمونه گیری اختلاف معنی داری وجود ندارد. درگروه ایمن از ۶۹۳ مورد فقط ۲ نمونه (۰/۳ درصد) دارای IgM بودند و این دو مورد در هفته های ۱۲-۱۱ نمونه گیری شده بودند. در گروه غیر ایمن وضعیت کاملا متفاوت بود در این گروه در تمامی موارد بین پاسخ IgM منفی و IgM مثبت بر حسب زمان نمونه گیری تفاوت مشاهده می شود. بالاترین میزان پاسخ IgM مثبت در بین مواردی دیده می شود که در هفته های ۱۴-۱۳ نمونه گیری شده اند(۸۳/۳ درصد) و کمترین میزان پاسخ IgM مربوط به مواردی می شد که در هفته های ۴-۳ نمونه گیری شده بودند(۵۷/۱ درصد). با وجود تفاوتهای ظاهری آزمونهای آماری نشان می دهند که این اختلافات معنی دار نمی باشند (جدول ۴).

بحث:

معمولا تشخیص عفونت سرخجه بر مبنای شناسایی IgM اختصاصی سرخجه ، تغییر سرمی Seroconversion و یا افزایش بیش از چهار برابر در عیار آنتی بادی IgG اختصاصی سرخجه در دو سرم حاد و نقاهت انجام می گیرد(۱۴). اما هیچیک از روشهای یاد شده توان تشخیص دادن یک عفونت اولیه از یک عفونت مجدد را ندارند(۸). شناسایی IgM اختصاصی سرخجه به تنهایی دلیل قاطعی برای عفونت اولیه سرخجه نمی باشد, زیرا پاسخ IgM ممکن است پس از عفونت اولیه برای مدتهای طولانی پایدار بماند و یا اینکه در عفونت مجدد نیز تولید شود(۱۰, ۱۱, ۱۵و۱۶). علاوه بر این برخی بیماران آنتی بادی IgM را به مقدار قابل شناسایی نمی سازند, ولی در عین حال آنتی بادی IgG در این افراد قابل شناسایی است(۹). افزایش بیش از چهار برابر در عیار آنتی بادیIgG اختصاصی سرخجه نیز تنها می تواند نشانی از وجود عفونت جاری باشد, ولی نمی تواند اولیه یا مجدد بودن عفونت را مشخص سازد(۱۰, ۱۱, ۱۵و۱۶).

عفونت اولیه سرخجه در زمان بارداری, به ویژه در سه ماهه اول باعث ایجاد ناهنجاریهای شدید در جنین می شود, اما عفونت مجدد در زمان بارداری خطری برای جنین ندارد ولی در عین حال گزارشهای بسیار نادری از بروز CRS با عفونت مجدد سرخجه نیز وجود دارد(۱۰و۱۷). بنابراین تمایز عفونت اولیه از عفونت مجدد سرخجه در زنان باردار بسیار حائز اهمیت است.

سنجش اویدیتی IgG اختصاصی سرخجه توانایی بسیار بالایی در تمایز بین عفونت اولیه و عفونت مجدد سرخجه دارد(۱۸-۱۷). در عفونت اولیه جاری یا اخیر اویدیتی IgG پائین است , در حالیکه در عفونت مجدد اویدیتی IgG بالاست. بنابراین روش سنجش اویدیتی IgG برای تمایز LA-IgG از HA-IgG می تواند بعنوان یک تست جایگزین برای روش IgM-EIA بکار رود(۱۰،۱۵و۱۹).

واکسیناسیون سرخجه برای زنان باردار توصیه نمی گردد، زیرا هنوز بطور قطع و یقین زیان آور نبودن آن بر روی جنین ثابت نشده است(۲۰). یافته های پژوهشهایی از ایالات متحده آمریکا, انگلیس, سوئد و آلمان بر روی ۶۸۰ نوزاد مادرانی که سه ماه قبل از بارداری و یا در طول بارداری واکسن سرخجه دریافت کرده بودند, و قبل از واکسن هیچگونه ایمنی بر علیه سرخجه نداشتند- نشان می دهد که هیچ یک از بچه های بدنیا آمده مبتلا به CRS نبودند. مادران۲۹۳ مورد از نوزادان یاد شده ۲-۱ هفته قبل از بارداری تا ۶-۴ هفته پس از بارداری واکسن دریافت کرده بودند. آنالیز آماری با این تعداد نمونه زیان آور نبودن واکسن را با قاطعیت تائید نمی کند, و حداکثر ۱/۳٪ احتمال خطر تئوریک برای زیان آور بودن واکسن باقی می گذارد(۷). ولی تا کنون هیچ موردی از CRS در زنان بارداری که واکسن سرخجه دریافت کرده اند گزارش نشده است(۷و۲۰). یافته ها نشان می دهند سویه واکسن سرخجه توانایی ایجاد ناهنجاری در جنین را ندارد(۷و۲۰), اما به دلیل اینکه تعداد نمونه ها در مطالعات انجام شده کافی به نظر نمی رسد, نمی توان احتمال خطر تئوریک سویه واکسن را در زمان بارداری نادیده گرفت(۷).

در این پژوهش از روش IgG Avidity Assay برای تمایز بین عفونت اولیه و عفونت مجدد استفاده گردید. بنیادی ترین بخش این روش محاسبه دقیق Cut-off point برای جداسازی LA IgG از HA IgG است. برای اینکار پانل هایی لازم است که وضعیت عفونت اولیه و یا مجدد بودن آنها قبل از انجام تست مشخص بوده باشد. در این پژوهش تعداد نسبتا زیادی از این نمونه ها فراهم گردید و بعد از انجام آزمایش IgG Avidity Assay نتایج با دو روش آماری معتبر CART و Roc-Curve مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. عدد ۵۳/۵۵٪ بعنوان Cut-off point توسط هر دو روش تعیین گردید. در این حالت ایده آلترین حساسیت و ویژگی (۱ و ۱) برای تست IgG Avidity Assay متصور است(اطلاعات هنوز چاپ نشده). در مقایسه با کار های دیگران با اطمینان خاطر بیشتری می توان به این عدد اعتماد نمود چون در کمتر موردی این تعداد نمونه که به این وضوح وضعیت اولیه یا مجدد بودن عفونت در آنها مشخص باشد, برای ارزیابی تست فراهم می گردد(۱۸).

در این پژوهش در ۷۶/۹ درصد از موارد عفونت اولیه IgM اختصاصی سرخجه شناسایی شد و در ۲۳/۱ درصد از موارد IgM EIA نتوانست عفونت اولیه را تشخیص دهد که این مساله از حساسیت تست IgM می کاهد. در ارزیابی های پیشین نشان داده شد که زمان نمونه گیری در حساسیت IgM EIA تاثیر دارد و بهترین زمان نمونه گیری بین ۱۰ روز پس از بروز بثورات جلدی تا یک ماه بعد از آن می باشد(۱). و با توجه به اینکه بثورات جلدی معمولا ۲۱-۱۶ روز بعد از مواجهه با ویروس ظاهر می شوند می توان انتظار داشت که در پژوهش حاضر ۲-۱ ماه بعد از واکسیناسیون سرخک – سرخجه مناسبترین زمان نمونه گیری بود. در مطالعه حاضر نمونه گیری از ۶۸٪ موارد در زمان مناسب انجام شده است(جدول ۴) ولی محاسبه حساسیت (۷۶٪)برای این نمونه ها نیز نشان می دهد که کماکان حساسیت IgM EIA برای شناسایی عفونت اولیه سرخجه پایین است (جدول ۴). آزمون آماری میان میزان موارد مثبت IgM و زمان نمونه گیری در این مطالعه ارتباطی را معین نمی کند($P > ۰/۰۵$). بنابراین حساسیت محاسبه شده بدون در نظر گرفتن زمان نمونه گیری نیز به اعتبار خود باقی است. در یک بررسی نشان داده شده است که در همه سرمهایی که ۲۸-۱۵ روز پس از شروع بیماری سرخجه گرفته شده بودند, IgM قابل شناسایی بود، اما به مرور زمان

IgM کمتر می شد بطوریکه ۲-۱ ماه بعد در ۷۱ درصد، ۳-۲ ماه بعد در ۲۸ درصد و در ۴-۳ ماه بعد فقط در ۹ درصد موارد IgM قابل شناسایی بود و پس از ۴ ماه در هیچ موردی IgM شناسایی نگردید, در حالیکه IgG LAتا سه ماه در تمام موارد شناسایی شد (۸). همچنین در این پژوهش نشان داده شد که در ماه چهارم هنوز در ۹۱ درصد و در ماه ۷-۵ در ۲۱ درصد موارد LA IgG قابل شناسایی است(۸). به علاوه لازم به ذکر است که برخی بیماران مقادیر قابل شناسایی از آنتی بادی IgM , تولید نمی کنند ولی در این افراد IgG قابل شناسایی است. بنابراین با استفاده از روش سنجش اویدیتی می توان وضعیت ایمنی این گروه IgM منفی را در یک سرم مشخص کرد(۹). در پژوهش دیگری دوره بلوغ اویدیتی IgG سرخجه پس از عفونت اولیه بر روی ۱۵ بیمار مبتلا به عفونت حاد سرخجه در طول پنج ماه پس از شروع علائم بالینی مورد بررسی قرار گرفت. همه موارد تا ۱۳ هفته پس از ظهور دانه های پوستی هنوز دارای LA IgG بودند(۱۰).

یافته های پژوهش حاضر نشان می دهند که در بین افرادی که دارای HA IgG بودند و مطابق تئوری های کلاسیک نباید در آنها بدنبال واکسیناسیون، IgM ساخته شود, در ۰/۳ درصد موارد IgM اختصاصی سرخجه شناسایی شد. این موارد علیرغم مثبت بودن IgM اختصاصی سرخجه , یک عفونت مجدد با سویه واکسن را نشان می دادند؛ زیرا IgM اختصاصی سرخجه می تواند در هر دو شکل عفونت (اولیه و مجدد) سرخجه شناسایی شود و این مساله از ویژگی تست IgM EIA می کاهد، بنابر این تمایز عفونت اولیه از عفونت مجدد نمی تواند بر اساس شناسایی IgM باشد(۱۱و۱۶). هنگامیکه خانم بارداری از موارد مشکوک به سرخجه باشد و یا با یک بیمار مبتلا به سرخجه تماس داشته باشد، تشخیص صحیح عفونت اولیه سرخجه بسیار حائز اهمیت است(۸). همچنین لازم به ذکر است که با استفاده گسترده از واکسن سرخجه، موارد کمتری از عفونت سرخجه در زمان بارداری عفونت اولیه خواهد بود و بیشتر این موارد عفونت مجدد سرخجه خواهند بود(۱۲). بنابراین تنها شناسایی IgM تولید شده نمی تواند بین عفونت اولیه و عفونت مجدد تمایز قائل شود. در این موارد روش سنجش اویدیتی IgG بسیار سودمند است، زیرا در عفونت اخیر سرخجه اویدیتی IgG پائین است در حالیکه در عفونت مجدد اویدیتی IgG بالاست(۱۸).

در این بررسی آزمایش Anti-Rubella IgM EIA در مقایسه با Anti-Rubella IgG avidity assay مورد ارزیابی قرار گرفت ونشان داده شد که تست IgM EIA حساسیتی برابر با ۷۶/۹ درصد دارد ؛ یعنی این روش توانایی شناسایی همه موارد عفونت اولیه را ندارد اما این روش از ویژگی مطلوبی (۹۹/۷ درصد) برخوردار است و در شناسایی موارد منفی و یا موارد عفونت مجدد توانایی خوبی دارد. نتایج مشابهی در پژوهشهای دیگر بدست آمده است(۱و۲۱). قبلا حساسیت و ویژگی تست IgM EIA برای شناسایی سرخجه با استفاده از کیت بهرینگ مورد ارزیابی قرار گرفت و نشان داده شد که حساسیت آن ۷۵/۹ درصد و ویژگی آن ۹۸/۷ درصد است(۱). بررسی حاضر نشان می دهد که ارزش اخباری مثبت IgM EIA ۹۷/۶ درصد و ارزش اخباری منفی آن ۹۶/۴ درصد است. هنگامیکه بروز سرخجه در جامعه بر اثر گسترش واکسیناسیون با هدف ریشه کنی کاهش می یابد، شناسایی حتی یک مورد نیز ارزشمند خواهد بود بنابر این روشهایی مطلوب هستند که بالاترین ارزشهای اخباری را دارا باشند. در اینچنین شرایطی ارزش اخباری مثبت آزمایش شناسایی IgM برای تائید عفونت اخیر سرخجه کافی نمی باشد (۱۷). بنابر این سنجش اویدیتی IgG اختصاصی سرخجه یک روش جدید، ویژه و حساس برای تشخیص سرولوژیک عفونت اخیر و تمایز عفونت اولیه از عفونت مجدد سرخجه می باشد و در زمان ریشه کنی نیز می تواند توانایی بسیار بالایی را در جهت شناسایی دقیق موارد مشکوک از خود نشان دهد(۱۸).

نتایج پژوهش حاضر نشان می دهد که ۱۴/۴ درصد از موارد LA Anti-rubella IgG داشتند و یک عفونت اولیه را با سویه واکسن تجربه کرده بودند, در حالیکه ۸۵/۶ درصد موارد دارای HA Anti-rubella IgG بودند و یک عفونت مجدد را با سویه واکسن نشان می دادند. این نتایج نشان می دهد که میزان ایمنی در زنان سنین باروری ایران بدون واکسیناسیون تقریبا بالاست(۸۵/۶٪). این یافته ها , یافته های قبلی را تائید می کنند. پژوهشی در شهرستان اهواز بر روی زنان گروه سنی ۴۳-۱۵ سال نشان می دهد که ۹۳٪ از افراد بر ضد سرخجه ایمن بودند(۲۲). مطالعه دیگری در شهرستان

CRS در بین نوزادان وجود خواهد داشت.

این یافته ها نشان می دهند که برای حذف CRS در ایران واکسیناسیون سرخجه لازم است. واکسیناسیون عمومی سال ۱۳۸۲ پوشش ایمنی بسیار مطلوبی را در بین زنان سنین باروری ایجاد کرده است و برای حفظ و تداوم این پوشش لازم است واکسیناسیون بر علیه سرخجه در سیاستهای متداول واکسیناسیون وارد گردد و همه کودکان بر علیه سرخجه نیز واکسینه شوند, در غیر اینصورت با توجه به اینکه با واکسیناسیون عمومی گردش ویروس در جامعه تقریبا قطع شده است باقی گذاشتن جمعیتی حساس می تواند خطرآفرین باشد.

بین دو گروه سنی زیر ۲۰ سال و بالای ۲۰ سال از نظر بروز عفونت اولیه یا مجدد با سویه واکسن تفاوت آشکاری مشاهده می شود. در گروه سنی زیر ۲۰ سال ۲۱/۴ درصد از موارد عفونت اولیه سرخجه را با سویه واکسن تجربه کرده بودند و ۷۸/۶ درصد از موارد با سویه واکسن دچار یک عفونت مجدد شده بودند در حالیکه در گروه سنی بالای ۲۰ سال ۱۱/۸ درصد موارد عفونت اولیه و ۸۸/۲ درصد از آنها عفونت مجدد با ویروس سرخجه داشتند. این اختلاف از نظر آماری معنی دار است و بدان معنی است که با افزایش سن میزان ایمنی افراد در برابر سرخجه افزایش می یابد. این یافته کاملا با یافته های قبلی همسویی دارد. در سال ۱۳۵۰ میزان ایمنی در برابر سرخجه در کودکان یکساله تهرانی ۲۹ درصد، در بچه های ۹ ساله ۹۰ درصد و در نوجوانان ۱۵ ساله ۹۷ درصد گزارش شده است(۲۶). در حال حاضر میزان ایمنی در برابر ویروس سرخجه نسبت به گذشته در تهران پائین تر آمده است که شاید به این دلیل باشد که در بین جمعیتهای تهرانی کمابیش واکسن سرخجه طی سالهای اخیر استفاده می شود؛ زیرا واکسیناسیون بر ضد سرخجه می تواند باعث کاهش گردش ویروس در جامعه شود و در نتیجه برخورد افراد حساس به ویروس سرخجه را کاهش دهد(۳).

در این پژوهش نمونه گیری از افراد تا فاصله ۴ ماه بعد از واکسیناسیون ادامه پیدا کرد ولی نتایج نشان دادند که بین پاسخ LA IgG و HA IgG با فاصله زمانی نمونه گیری از واکسیناسیون ارتباط وجود ندارد؛ یعنی ابراز پاسخهای یاد شده بازتاب پاسخ ایمنی اولیه و ثانویه بر علیه سویه واکسن هستند و در ارتباط با داشتن یا نداشتن ایمنی بر علیه سرخجه قبل از واکسیناسیون اخیر می باشند. بعبارت دیگر پاسخهای فوق بیانگر عفونت اولیه و یا عفونت مجدد با سوش واکسن هستند و ارتباطی با فاصله زمانی از واکسیناسیون و نمونه گیری ندارند. همچنین نتایج بیانگر این واقعیت نیز هستند که روش سنجش اویدیتی IgG اختصاصی سرخجه می تواند تا فاصله چهار ماهه بین دریافت واکسن تا نمونه گیری عفونت اولیه را از عفونت مجدد تشخیص دهد. ضمن پژوهشی نشان داده شده است که میزان اویدیتی تمام نمونه ها ۲ هفته پس از واکسیناسیون ۱۵٪ > و ۲ ماه پس از واکسیناسیون ۳۰٪ > بود و پس از ۴ ماه یک افزایش چشمگیر در میزان اویدیتی مشاهده می شود (۱۵). این مساله اهمیت روش سنجش اویدیتی را نشان می دهد که تا ۴ ماه قابلیت تمایز عفونت اولیه را از عفونت مجدد دارد(۱۵).

روش سنجش اویدیتی IgG در تمایز بین عفونت اولیه و ثانویه بسیار با ارزش است و علاوه بر این در زمانی هم که میزان شیوع عفونت در جامعه به دنبال واکسیناسیون بسیار کم شده است و بیمار یابی در ارتباط با اهداف ریشه کنی بیماری اهمیت بسیار بالائی خواهد داشت این روش می تواند در ترکیبی با روشهای دیگر سرولوژیک ضریب اعتماد به شناسایی سرخجه را در جامعه بسیار بالا ببرد و به آن قطعیت بخشد(۱۷).

تشکر و قدردانی:

در پایان از مرکز مدیریت بیماریها بخاطر ایجاد هماهنگی های لازم جهت نمونه گیری و همچنین تهیه کیتهای لازم , از بخش عفونی بیمارستان امام خمینی و بخش زنان و زایمان بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص) بخاطر همکاری در نمونه گیری و از تکنیسین های بخش ویروس شناسی دانشکده بهداشت, دانشگاه علوم پزشکی تهران که در امر نمونه گیری شرکت داشتند بویژه از سرکار خانم سعادتمند که در انجام آزمایشها نیز یاریمان دادند , صمیمانه سپاسگزاری می گردد.

REFERENCES:

1. Tipples G, Hamkar Rasool, Mohktari-Azad Talat, Gray Michael, Ball Jennifer, Head Carol and Ratnam Samuel (2004). Evaluation of rubella IgM enzyme immunoassays. .Journal of Clinical Virology; 30: 233-238

2. WHO (2003). Rubella Vaccine. htt)2://www.int/vaccines/en/rubella.shtml

3. WHO (2000). Report of a meeting on preventing congenital rubella syndrome: immunization strategies, surveillance needs; 12-14 January. www. vaccines. who.int/vaccines-documents/

4. Plotkin Stanley A. Rubella eradication (2001). Vaccine; 19: 3311-3319

5. Robertson S.E, Cutts F.T, Samuel R Diaz-Ortega J-L (1997). Bulletin of the World Health Organization; 75(1): 69-80

۶- صدیقی ژیلا، افتخار حسن و محمد کاظم. سرخجه مادرزادی: از عوامل خطر ناشنوایی حسی – عصبی کودکان در شهر تهران (۱۳۷۹). مجله حکیم. دوره ۳. شماره ۲: ۱۰۱-۹۵.

7. CDC (2001). Notice to Readers: Revised ACIP Recommendation for Avoiding Pregnancy After Receiving a Rubella-Containing Vaccine. MMWR ; 50(49): 1117

8. Thomas H.I.J, Morgan-Capner P, Enders G,O'Shea S, Caldicott D and Best JM (1992). Persistence of specific IgM and low avidity specific IgG following primary rubella. Journal of Virological Methods; 39:149-155

9. Inouye S., Hasegawa A., Matsuno Sh. and Katow Sh (1984). Changes in Antibody Avidity After Virus Infections: Detection by an Immunosorbent Assay in Which Mild Protein- Denaturing Agent is Employed. Journal of Clinical Microbiolobgy; 20(3): 525-529

10 Bottiger Blena and Panum Jensen Inge (1997). Maturation of rubella IgG avidity. over time after acute rubella infection. Clinical and Diagnostic Virology; 8: 105-111

11 Thomas H.I.J and Morgan-Capner P (1988). Rubella-specific IgG subclass avidity, ELISA and its in the differentiation between primary rubella reinfection. Epidem.lnf; 101 591-598

12. Thomas H.I.J, Charlett A and Cubie H.A (199.5). Specific IgGl avidity maturation after rubella vaccination: A comparison with avidity maturation after primary infection with wild rubella virus. Serodiagn. Immunother Infect .Disease; 7: 75-80

13 Lewis R.J. An Introduction to Classificatio and Regression Tree(CART) Analysis

14. Best JM and Banatvala JE. (2000). Rubella. In: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattison JR editors. Principles and practice of clinical virology. 4th *ed.UK:* John Wiley and Sons.p.387-415 .

15. Hedman Klaus and et al (1989). Maturation of Immunoglobulin G Avidity

After Rubella Vaccination Studied by an Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Avidity-ELISA) and by Haemolysisin Typing. Journal of Medical Virology: 27: 293-298

16. Hedman K and Seppala I (1988). Recent Rubella Virus Infection Indicated by a Low Avidity of Specific IgG. Journal ofClinacal Immunology; 8(3): 214-221

17. Akingbade D, Cohen BJ and Brown DW (2003). Detection of Low-Avidity Immunoglobulin G in Oral Fluid Samples: New Approach for Rubella Diagnosis and Surveillance. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology: 189-190

18. Gutierrez J and et al (1999). Reliability of Low-Avidity IgG and IgA in the Diagnosis of Primary Infection by Rubella Virus With Adaptation of a Commercial Test. Journal of Clinical Laboratory Analysis; 13: 1-4

19. Roussean S and Hedman K (1988). Rubella infection and reinfection distinguished by avidity of IgG. The Lancet; 14:1108-1109

سرمی سرخجه و تعیین مناسبترین استراتژی ایمن سازی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی. شماره ۱: ۱-۱۷.
۲۴- مردانی مسعود (۱۳۷۵). بررسی ایمنی نسبت به سرخجه در زنان ۱۹-۱۰ ساله در استان چهارمحال بختیاری. پنجمین کنگره بیماریهای عفونی و گرمسیری ایران.
25. Kabiri M and Moattari A (1993). The Rubella Immunosurveillance of Iranian Females: An Indication of The Emergence of Rubela Outbreak in Shiraz, Iran. Iranian Journal of Medical Science; 18(3-4): 134-137
26. Saidi S (1972). Epidemiological survey of rubella immunity in Iran. Builtin of WHO. 46:563-565.
20. CDC (1989). Current Trends Rubella Vaccination during Pregnancy-United States, 1971- 1988. MMWR; 38(17): 289-293
21. Hudson P, Morgan-Capner P (1996). Evaluation of 15 commercial enzyme immunoassays for the detection of rubella-specific IgM. Clinical and Diagnostic Virology; 5 :21-26
۲۲- شمسی زاده حیات داودی احمد، مکوندی منوچهر (۱۳۸۱). بررسی وضعیت ایمنی خانم های اهوازی نسبت به سرخجه بعد از ازدواج به روش الایزا. مجله علمی پزشکی، شماره ۳۲: ۲۶-۲۲.
۲۳- اردبیلی افتخار حسن، سالاری لک شاکر، فرخاسلاملو حمید رضا و هلاکویی نائینی کوروش (۱۳۸۳). بررسی اپیدمیولوژیک

	HA Anti-Rubella IgG		LA Anti-Rubella IgG		
Anti-rubella IgM	تعداد	درصد	تعداد	درصد	جمع
مثبت	۲	۲/۲	۹۰	۹۲	۹۲
منفی	۶۹۱	۹۶/۲	۲۷	۷۱۸	۷۱۸
جمع	۶۹۳	۸۵/۶	۱۱۷	۸۱۰	۸۱۰

LA=Low Avidity HA=High Avidity MR=Measles-Rubella

جدول شماره ۱- توزیع فراوانی مطلق و نسبی LA/HA Anti-Rubella IgG در زنان بارداری که در واکسیناسیون عمومی سرخک – سرخجه بطور اتفاقی واکسن MR دریافت کرده اند

روش آزمایش	حساسیت	ویژگی	ارزش اخباری مثبت	ارزش اخباری منفی
	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
Anti-rubella EIA	۷۶/۹ (۶۹/۳-۸۴/۵)	۹۹/۷ (۹۹/۳-۱۰۰)	۹۷/۶ (۹۶/۶-۹۸/۶)	۹۶/۴ (۹۵/۱-۹۷/۷)

جدول شماره ۲- میزان حساسیت ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی Anti-Rubella IgM EIA نسبت به Anti-Rubella IgG Avidity assay

	LA IgG						HA IgG					
سن / سال	IgMمثبت		IgM منفی		جمع		IgMمثبت		IgM منفی		جمع	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	آزمون
<=۲۰	۳۸	۸۲/۶	۸	۱۷/۴	۴۶	۲۱/۴	۰	۰	۱۶۹	۱۰۰	۱۶۹	۷۸/۶	X^2 =۱۶۹/۵۸ P=۰/۰۰۰۰۰۰۰۰
> ۲۰	۵۲	۷۳/۲	۱۹	۲۶/۸	۷۱	۱۱/۹	۲	۰/۴	۵۲۲	۹۹/۶	۵۲۴	۸۸/۱	X^2=۴۰۵/۲۳ P=۰/۰۰۰۰۰۰۰۰
جمع	۹۰	۷۶/۹	۲۷	۲۳/۱	۱۱۷	۱۴/۴	۲	۰/۳	۶۹۱	۹۹/۷	۶۹۳	۸۵/۶	X^2=۵۳۹/۰۷ P=۰/۰۰۰۰۰۰۰۰

X^2 = ۱۱/۶۱ P= ۰/۰۰۶۵

LA= Low Avidity HA= High Avidity MR= Measles-Rubella

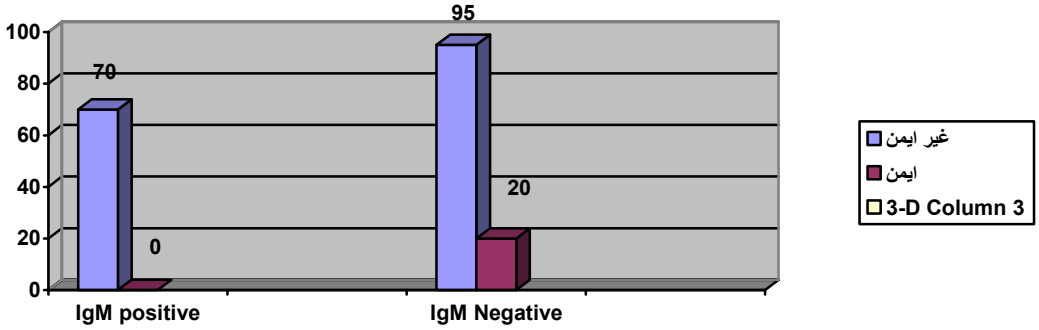
جدول شماره ۳- توزیع فراوانی مطلق و نسبی پاسخهای LA/HA Anti-rubella IgG بر حسب پاسخ IgM سن در زنان بارداری که در واکسیناسیون عمومی سرخک – سرخجه واکسن دریافت کرده اند

فاصله واکسیناسیون تا نمونه گیری/هفته	LA IgG						HA IgG					
	IgMمثبت		IgM منفی		جمع		IgMمثبت		IgM منفی		جمع	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
۳-۴	۴	۵۷/۱	۳	۴۲/۹	۷	۱۳/۵	۰	۰	۴۵	۱۰۰	۴۵	۸۶/۵
۵-۶	۲۰	۷۴/۱	۷	۲۵/۹	۲۷	۱۱/۱	۰	۰	۲۱۶	۱۰۰	۲۱۶	۸۸/۹
۷-۸	۳۰	۸۱/۱	۷	۱۸/۹	۳۷	۱۵/۲	۰	۰	۲۰۷	۱۰۰	۲۰۷	۸۴/۸
۹-۱۰	۳۳	۷۹/۳	۶	۲۰/۷	۲۹	۲۱	۰	۰	۱۰۹	۱۰۰	۱۰۹	۷۹
۱۱-۱۲	۸	۷۲/۷	۳	۲۷/۳	۱۱	۱۳/۹	۲	۳	۶۶	۹۷	۶۸	۸۶/۱
۱۳-۱۴	۵	۸۳/۳	۱	۱۶/۷	۶	۱۲/۲	۰	۰	۴۳	۱۰۰	۴۳	۸۷/۸
۱۵-۱۶	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۵	۱۰۰	۵	۱۰۰
جمع	۹۰	۷۶/۹	۲۷	۲۳/۱	۱۱۷	۱۴/۷	۲	۰/۳	۶۹۱	۹۹/۷	۶۹۳	۸۵/۳
آزمون	X^2=۵۳۵/۷۲ P=۰/۰۰۰۰۰۰۰۰											

جدول شماره ۴- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد LA/HA Anti rubella IgG بر حسب پاسخ IgM و فاصله زمانی بین دریافت واکسن تا نمونه گیری در زنان بارداری که در واکسیناسیون عمومی سرخک _ سرخجه واکسن دریافت کرده اند.

X^2= ۲/۳۷ P= ۰/۷۹۶

LA = Low Avidity HA= High Avidity MR= Measles - Rubella



نمودار ۱- توزیع فراوانی نسبی نمونه های مورد پژوهش بر حسب وضعیت ایمنی نسبت به سرخجه قبل از واکسیناسیون و پاسخ Anti-Rubella IgM در زنان بارداری که واکسیناسیون عمومی سرخک – سرخجه بطور استباهی واکسن دریافت کرده اند.