

بررسی میزان شیوع عفونت پاروویروس B19 در دختران در شرف ازدواج و

بانوان باردار در حین زایمان و نوزادان آنها در شیراز

مازیار ضیائی^۱، منوچهر رسولی، دکتر عبدالوهاب البرزی

چکیده: عفونت با پاروویروس B19 در انسان معمولاً منجر به بیماری پنجم *fifth Disease* می‌شود. در بالغین و بخصوص بانوان عفونت با این ویروس علاوه بر تب همراه دردهای مفصلی خواهد بود. پاروویروس B19 در افراد با سیستم ایمنی سرکوب شده می‌تواند کم خونی مزمن ایجاد کند. عفونت با B19 در حین بارداری میتواند همراه با درگیری جنین و عوارض مخرب بر آن باشد. مثل کم خونی آپلاستیک و هیدروپس فتالین و مرگ جنین در داخل رحم. در این تحقیق شیوع سرمی آنتی بادی ضد پاروویروس B19 در سه گروه از افراد مشخص گردیده است. گروه اول دخترانی هستند که در شرف ازدواج قرار دارند. گروه دوم زنان بارداری می‌باشد که در حال زایمانند و گروه سوم فرزندان تازه متولد شده افراد گروه دو اند. اندازه گیری آنتی بادی اختصاصی ضد پاروویروس B19 در این افراد به کمک روش *ELISA* انجام شد. که برای گروه اول *IgG* و برای گروههای دوم و سوم و *IgG IgM* سرمی آنها تشخیص داده شد. براساس نتایج بدست آمده از 91 نفر گروه اول 56 نفر (61.54%) دارای *IgG* اختصاصی علیه پاروویروس B19 بوده‌اند و 184 نفر گروه دوم 127 نفر (69%) دارای *IgG* و 127 نفر (2.17%) دارای *IgM* اختصاصی علیه ویروس یادشده بودند. همچنین از 184 نفر گروه سوم 127 نفر (69%) دارای *IgG* بودند ولی در سرم بند ناف هیچکدام از آنها *IgM* اختصاصی ضد پاروویروس B19 یافت نشد بنابراین از کل 275 نفر دوشیزه و بانوی در سن بارآوری 183 نفر (66.55%) دارای *IgG* ضد B19 بوده‌اند. براساس نتایج بدست آمده بنظر میرسد آنتی بادی *IgG* مادری بخوبی توانسته به کلیه جنین‌ها منتقل شود. از طرفی نشان داده شده که گروهی از زنان ایرانی در سنین بارآوری در معرض خطر آلودگی با پاروویروس B19 قرار دارند.

واژه‌های کلیدی: پاروویروس B19، شیوع سرمی، عفونتهای مادرزادی، *ELISA*.

مقدمه:

نماید و اما عفونت اولیه با B19 در حین بارداری برای بانوانی که آنتی بادی ضد ویروس را ندارند می‌تواند منجر به درگیری جنین در داخل رحم گردد که از عوارض آن مرگ جنین در داخل رحم است (12) که به نظر میرسد علت اصلی این رخداد ایجاد کم خونی در جنین به علت گرفتاری سلولهای پیش ساز سلولهای قرمز خون در مغز استخوان است و از دیگر علت‌های مرگ جنین شاید میکاردیت و واسکولیت و تخریب کبد باشد که توسط ویروس صورت میگیرد (12) از عوارض دیگر عفونت داخل رحمی با این ویروس هیدروپس فتالین غیر ایمن است و درگیری مغزی نیز در جنین‌ها اخیراً گزارش شده است (6). تعیین شیوع سرمی آنتی بادی B19 در دوشیزگان و بانوان باردار شیرازی از اهداف این تحقیق بشمار میرود زیرا در این ناحیه اطلاعات دقیقی درباره شیوع آنتی بادی ضد B19 و تخمین میزان ایمنی و حساسیت در بین افراد مونث در سن بارآوری در دسترس نبوده است.

مواد و روشها
بیماران:

پاروویروس انسانی *B19 DNA* ویروسی از جنس *Erythrovirus* ها است که در خانواده پاروویریده جای می‌گیرند (16). B19 معمولاً از طریق سیستم تنفسی انسان را آلوده می‌کند و تمایل دارد در پیش سازهای سلولهای قرمز خون در مغز استخوان تکثیر کند (2). البته ویروس می‌تواند از طریق انتقال خون و فرآورده‌های خونی نیز منتقل شود (10) این ویروس همراه بیماریهای متعددی دیده شده است که بیماری غالب آن *Erythema-infectiosum* یا بیماری پنجم است که همراه بشورات جلدی است و از بیماریهای دوران کودکی است (1). از دیگر ناراحتی‌های ایجاد شده توسط این ویروس می‌توان به آرتریت حاد در بالغین (14) و ایجاد عفونت پایدار B19 در غشای مفصلی مغز استخوان افراد دارای آرتریت اشاره کرد (17). همچنین B19 در بیماری که کم خونی همولیتیک مزمن دارند می‌تواند ایجاد بحران عدم تولید نماید که گاهی این اختلال تهدید کننده زندگی است (13). از طرفی در افراد سرکوب ایمنی شده ایجاد عفونت مزمن کرده و شاید در آنها کم‌خونی مزمن ایجاد

پلیت خون از نوع (*Thermo labssystem finland*) خوانده شد. حدکاتاف نمونه‌های مثبت نیز بر اساس فرمول شرح داده شده در راهنمای کیت محاسبه شد.

تشخیص آنتی بادی IgM اختصاصی ضد B19 :

IgM اختصاصی ضد پاروویروس نیز به کمک کیت *MAC-ELISA* و مطابق دستورات شرکت سازنده (دنکاسکین ژاپن- توکیو) تعیین گردید که به صورت خلاصه به قرار زیر است :

۱۰۰ میکروگرم از سرم *1/201* رقیق شده بیماران و *100* میکرولیتر نیز از هر کدام از استانداردها به چاهک‌های میکروپلیتی که در آنها آنتی بادی بزی ضد آنتی بادی‌های *IgM* انسانی کت شده بود اضافه گردید و پس از آنکه میکروپلیت‌ها به مدت یک ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند چاهک‌ها را شسته و به هر کدام *100* میکرولیتر از آنتی ژن‌های پاروویروس اضافه گردید و برای یک ساعت دیگر نیز در دمای اتاق نگهداری شد. سپس بعد از شستشو *100* میکرولیتر آنتی بادی بزی ضد آنتی ژن پاروویروس متصل به آنزیم پراکسیداز به هر یک از چاهک‌ها اضافه شد و برای یک ساعت نیز در دمای اتاق نگهداری گردید . برای مراحل پایانی آزمون و خواندن نتایج نیز مطابق مراحل انتهایی سنجش *IgG* رفتار شد.

روشهای آماری:

برای آنالیز داده های خود از نرم افزار *SPSS* یا *Statistical Package For Social sciences* استفاده نمودیم. از روش آماری مجذور کای برای برقراری ارتباط بین متغیرها استفاده شده است و اندازه $p < 0.05$ نیز به عنوان حد معنی دار بودن بهره جسته شده است.

نتایج :

از تعداد ۱۸۴ بانوی در حین زایمان ۱۲۷ نفر (۶۹٪) دارای آنتی بادی *IgG* ضد *B19* بودند و از همین تعداد نیز ۴ نفر (۲/۱۷٪) دارای *IgM* اختصاصی ضد *B19* بودند علاوه بر آن دارای *IgG* ضد ویروس نیز بودند و تمام نوزادان متولد شده از زنانی که دارای *IgG* برای *B19* بودند نیز در سرم بند ناف خود دارای *IgG* ضد *B19* بودند اما در سرم هیچکدام از آنها *IgM* اختصاصی ضد *B19* قابل اندازه گیری یافت نشد. در جدول یک، سن بانوان باردار در مقابل شیوع سرمی *IgG* ضد *B19* رسم شده است. از تعداد ۹۱ نفر از دختران در آستانه ازدواج ۵۶ نفر (۶۱/۵۴٪) دارای *IgG* ضد *B19*

برای انجام این مطالعه سه گروه در نظر گرفته شد. گروه اول ۹۱ نفر از دختران در شرف ازدواج بودند که برای انجام آزمونهای پیش از ازدواج به مراکز بهداشت عمومی مراجعه کرده بودند . گروه دوم ۱۸۴ بانوی بارداری بودند که برای زایمان به سه زایشگاه در شهر شیراز مراجعه کرده بودند و گروه سوم نیز ۱۹۴ نوزاد افراد گروه دو بودند.

جمع‌آوری نمونه سرمی:

از گروه اول و دوم حدود ۱۰-۶ میلی‌لیتر نمونه خون محیطی لخته تهیه شد و از گروه سوم نیز ۵-۳ میلی‌لیتر خون بند ناف دریافت گردید. پس از جداسازی سرمها و شماره‌گذاری و نمونه‌های سرمی تا زمان انجام آزمایش در ۲۰- نگهداری گردیدند.

اطلاعات زمینه‌ای:

برای ضبط اطلاعات بیماران نیز پرسش نامه‌هایی تهیه گردید که در زمان جمع‌آوری نمونه آنها تکمیل گردیدند که برای دوشیزگان شامل سن و برای بانوان در حال زایمان شامل سن مادر ، وزن نوزاد، اندازه دور سر نوزاد و قد نوزاد بود (بعضی از اطلاعات نشان داده نشده است).

روشهای آزمایشگاهی:

برای دختران میزان شیوع *IgG* اختصاصی ضد *B19* و برای زنان در حال زایمان و فرزندان آنها *IgG* و *IgM* اختصاصی ضد *B19* انسانی به روش الیزا بررسی شدند.

تشخیص آنتی بادی IgG اختصاصی ضد B19

تعیین *IgG* ضد *B19* به کمک کیت الیزای *Antibody Capture* غیر مستقیم ساخت شرکت (دنکاسکین ژاپن) مطابق دستورات شرکت سازنده تعیین شد، که بطور خلاصه به این شرح است :

100 میکرولیتر از سرم *1/201* رقیق شده بیماران و *100* میکرولیتر از هر کدام از استانداردها به چاهک‌های میکروپلیتی که در آنها آنتی ژن ویروسی کت شده بود، اضافه گردید و پس از آنکه آنها به مدت یک ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند چاهک‌ها شسته شده و به هر کدام *100* میکرولیتر آنتی بادی بزی ضد *IgG* انسانی متصل به پراکسیداز اضافه گردید و برای یک ساعت دیگر نیز میکروپلیت‌ها در دمای اتاق نگه داشته شدند . پس از آن و بعد از شستشوی چاهک‌ها به هر کدام *100* میلی‌لیتر محلول سوبسترا (*3,3' -Tetramethyl benzidin - 5,5'*) اضافه گردید و اجازه داده شد که رنگ در عرض *30* دقیقه در دمای اتاق ایجاد گردد. در ادامه *۱۰۰* میکرولیتر محلول متوقف کننده (محلول اسید سولفوریک *0.06 N*) به هر چاهک اضافه شد و حداکثر پانزده دقیقه جذب نوری در طول موج‌های دو گانه *450/630* نانومتر با کمک یک دستگاه اتوماتیک

افزایش می‌یابد (۷۰۱۱) اما گروه دیگری از مطالعات نتوانسته‌اند این چنین وابستگی را نشان دهند (۹). به نظر می‌رسد در مطالعاتی که شیوع سرمی IgG وابسته به سن دیده شده است طیف سنین افراد مورد مطالعه بسیار گسترده بوده است به صورتی که افراد مورد مطالعه از سنین خردسالی تا کهنسالی متغیر بوده‌اند و از آنجایی که عفونت با B19 یک عفونت دوران کودکی است و میزان بروز عفونت در گروه‌های مختلف سنی بخصوص گروه‌های جوانتر متفاوت است بنابراین می‌توان به وابستگی سن و IgG پی برد (۵). در این مطالعه از آنجایی که میانگین سنی دختران در آستانه ازدواج به صورت معنی داری کمتر از میانگین سنی زنان در حال زایمان است. ($p < 0.001$) میتوان تفاوت در شیوع IgG را در بین گروه‌های مختلف سنی آن مشاهده کرد. نکته دوم اینکه در طبقه‌های گروهی جوانتر زنان در حال زایمان میزان شیوع آنتی بادی ضد B19، بر خلاف یافته‌های دوشیزگان؛ تفاوت معنی داری با سایر گروه‌های زنان باردار ندارد. این امر به این علت می‌تواند باشد که روابط اجتماعی یک بانوی مزدوج در کشورهای اسلامی بیشتر از یک دوشیزه مجرد در همین محدوده سنی است و از طرف دیگر ارتباط این گونه بانوان با کودکان؛ که به طور طبیعی بیشترین بروز عفونت با B19 در این محدوده سنی دیده میشود؛ زیادتر است و بجز این اگر چه به انتقال B19 از طریق تماس جنسی اشاره نشده است ولی شاید سایر فعالیت‌های فرد مزدوج در این امر دخالت داشته باشد. بنابراین میتوان فرض کرد ارتباطات اجتماعی- خانوادگی گسترده‌تر رایج در بین بانوان جوان تفاوت شیوع IgG وابسته به سن را در میان آنان کم‌رنگ کرده است. تمامی نوزادانی که از مادران دارای IgG ضد B19 متولد شده بودند دارای IgG مادری ضد B19 بودند بنابراین و با توجه به توان ماندگاری IgG مادری احتمال عفونت طبیعی با B19 تا زمان پایداری IgG مادری کم است. و نیز هیچکدام از نوزادانی که مادرانشان دارای IgM ضد B19 بودند دارای IgM ضد این ویروس نبودند زیرا IgM مادری قادر به گذر از جفت نیست و از طرفی شاید در این موارد عفونت مادری به جنین‌هایشان سرایت نکرده باشد و یا حتی با وجود عفونت و برانگیخته شدن پاسخ در جنین‌ها میزان این ایمونوگلوبولین به حد قابل تشخیص نرسیده بود. ما در این مطالعه نشان دادیم که حدود نیمی از جمعیت تحت مطالعه قابلیت ابتلا به عفونت با B19 را در سنین باروری دارند که این عفونت میتواند همراه پیامدهای ناگواری برای جنین‌های آنها باشد.

بودند که در جدول ۲ سن آنها در مقابل شیوع IgG سرمی ضد B19 در گروه دختران با افزایش سن به صورت معنی داری افزایش یافته است $P=0.047$ اما این اختلاف موجود در گروه‌های مختلف سنی بانوان معنی دار نیست. $P=0.047$ (جدول ۱ . ۲ . ۳)

در کل و مطابق جدول ۳ از تعداد ۲۷۵ نفر دوشیزه و بانوی شیرازی / ایرانی در سن بارآوری ۱۸۳ نفر (۶۶/۵۵٪) آنها دارای IgG اختصاصی ضد پاروویروس B19 بوده‌اند.

بحث :

عفونت پاروویروس B19 یک عفونت دوران کودکی است که همراه با تب مختصر و بثورات جلدی خود محدود شونده بوده و در افراد سالم و آنهایی که بیماری زمینهای ندارند معمولاً بدون بر جای گذاشتن عوارض خاصی ظرف یک هفته بهبود می‌یابد. اما عفونت با B19 در حین بارداری میتواند همراه با خطراتی برای جنین باشد. عوارض اینگونه عفونتها بسته به زمان بارداری از عفونتهای بدون علامت تا سقط جنین میتواند متغیر باشد. به همین منظور و برای بدست آوردن میزان حساسیت گروه‌های مختلف انسانی مطالعاتی در سراسر جهان صورت پذیرفته است . از جمله در مطالعه‌ای که در کویت بر روی بانوان در سنین بارآوری انجام شده شیوع سرمی IgG ضد B19 ۵۳/۳٪ و شیوع IgM سرمی ضد B19 ۲/۲٪ برآورد شده است(۹) . همچنین شیوع سرمی IgG ضد B19 در بین بانوان باردار در انگلستان ۵۳٪ و در ژاپن ۳۳٪ و در اسپانیا ۳۵٪ گزارش شده است (۳ . ۱۸ . ۴) . در مطالعات دیگری نیز که در بین گروه‌های مختلف سنی و جنسی مختلف در جهان انجام شده شیوع B19 بین ۲۰٪ تا ۸۰٪ گزارش شده است (۱،۱۵،۹). مطالعه حاضر به میزان شیوع B19 در بانوان در سن بارآوری در شیراز پرداخته است و همچنین میزان حضور آنتی بادی‌های مادری را در نوزادان بررسی کرده است. مطابق داده‌های بدست آمده و براساس نوع طبقه‌بندی سنی که مورد استفاده قرار گرفته است(جدول ۱ . ۲ . ۳) در گروه بانوان باردار تفاوت معنی‌داری در میزان شیوع IgG ضد پاروویروس بین گروه‌های سنی مختلف دیده نشد($P = 0.44$) . اما شیوع IgG ضد ویروس در گروه دختران با افزایش سن افزایش یافته است ($p=0.044$) در گروهی از مطالعاتی که در نقاط مختلف جهان انجام شده است شیوع IgG وابسته به سن دیده شده یعنی مشخص شده است که با افزایش سن میزان شیوع IgG پاروویروس

REFERENCES:

- 1) Anderson, L.J., Tsou, C., Parker, R.A., Chroba, T.L., Tattersall, P., Mortimer, P.P. 1996. Detection of antibodies and antigens of human parvovirus B19 by ELISA assay. *Clin. Microbiol.* 24, 522-526. J.
- 2) Brown, K.E., Anderson, S.M., Young, N.S., 1993. Erythrocyte P antigen: cellular receptor for B 19 parvovirus. *Science.* 262, 114-117.
- 3) Cohen, B.J., Bukley, M.M., 1998. The prevalence of antibodies to human parvovirus B 19 in England and Wales. *J. Med. Microbiol.* 25- 151-153.
- 4) Gratacos, E., Torres, P.J., Vidal, J., Antolin, E., Costa, J., Jimenez de Anta, M. T., Cararach, V., Alonso, P.L., Fortuny, A. 1995. The incidence of human parvovirus B19 infection during pregnancy and its impact on perinatal outcome. *J. Infect. Dis.* 171, 1360-1363.
- 5) Heegaard, E.D., Petersen, B.L., Heilmann, C.L., Horsleyh, A. 2002. Prevalence of parvovirus B19 and parvovirus V9 DNA and antibodies in paired bone marrow and serum samples from healthy individuals. *J. Clin. Microbiol.* 40, 933-936.
- 6) Isumi, H., Nunue, T., Nishida, A., Takashima, S. 1999. Fetal brain infection with human parvovirus B19. *Pediatr. Neurol.* 21, 661-663.
- 7) Koch, W.C., Alder, S.P., 1989. Human parvovirus B 19 infection in women of childbearing age and within families. *Pediatr. Infec. Dis. J.* 8, 83-87.
- 8) Lim, W.L., Wong, K. F., Lau, C. S., 1997. Prevalence B 19 infection in Hong Kong. *J. Infec.* 35, 247-249.
- 9) Maksheed, M., Pacsa, A. S., Essa, S., Ahmed, M. A., Abdul momen, R., Surkouh, M. 1999. The prevalence of antibody to human parvovirus B 19 in pregnant women in Kuwait. *Acta Tropica.* 73, 225-229.
- 10) Mortimer, P. P., Luban, N. L. C., Kelleher, L. F., Cohen, B. J., 1983. Transmission of serum parvovirus like virus by clotting factor concentrates. *Lancet* ii, 482-484.
- 11) Nunue, T., Okochi, K., Mortimer, P. P., Cohen, B. J., 1985. Human parvovirus B19 and erythema infectiosum. *J. Pediatr.* 107, 38-40.
- 12) Public health laboratory service wrking party on fifth disease.
prospective study of human parvovirus B 19 infection in pregnancy. 1990. *Br. Med. J.* 300, 1166-1170.
- 13) Rao, K. R. P., Patel, A. R., Anderson, M. J., Hudgson, J., Jones, S. E., Pattison, J. R., 1983. Infection with parvovirus like virus and aplastic crisis in chronic hemolytic anemia. *Ann. Intern. Med.* 98, 930-932.
- 14) Reid, D. M., Reid, T. M., Brown, T., Rennie, J. A., Eastmond, C., 1985. Human parvovirus associated arthritis: a clinical and laboratory description. *Lancet.* 1, 422-425.
- 15) Schwartz, T. F., Roggerdorf, M., Dinhardt, F., 1987. Prevalence of parvovirus B19 infection: a seroepidemiological study. *Deutsch Medicine Wochenscher.* 112, 1526-1531.
- 16) Siegl, G. R., Bates, R. C., Bern, K. I., Carter, B. J., Kelly, D. C., Kurstak, E., Tattersall, P., 1985. Characteristics and taxonomy of parvoviridae. *Intervirology.* 23, 61-73.
- 17) Stahl, H. D., Seidl, B., Hubner, B., Altricher, S., Pfeiffer, R., Pustowat, B., Liebert, U. G., Hofmann, J., Sogio, G. V., Emmrich, F., 2000. High incidence of parvovirus B 19 DNA in synovial tissue of patients with undifferentiated mono- and oligoarthritis. *Clin. Rheumatol.* 19, 281-286.
- 18) Yaegashi, N., Okumura, K., Hamazaki, Y., Yajima, A., Shiraishi, H., Sugamura, K., 1999. Prevalence of anti-human parvovirus antibody in pregnant women. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi.* 42. 162-166.

HCCOM

جدول شماره (۱) میزان شیوع آنتی بادی IgG در بین گروههای مختلف سنی بانوان در حال زایمان.

گروه سنی	تعداد مثبت	در صد مثبت	تعداد منفی	در صد منفی	تعداد کل افراد
<= 19	17	65.38%	9	34.62%	26
25-20	62	68.13%	29	31.87%	91
30-26	31	73.80%	11	26.20%	42
>30	17	68%	8	32%	25
کل	127	69.02%	57	30.98%	184

جدول شماره (۲) : میزان شیوع آنتی بادی در بین گروههای مختلف سنی در دختران در آستانه ازدواج.

گروه سنی	تعداد مثبت	در صد مثبت	تعداد منفی	در صد منفی	تعداد کل افراد
<= 19	24	51.06%	23	48.49%	47
25-20	26	72.23%	10	27.77%	36
30-26	6	75%	2	25%	8
>30	0	0	0	0	0
کل	56	61.54%	35	38.46%	91

جدول شماره (۳) : میزان شیوع آنتی بادی در بین گروههای مختلف سنی دوشیزه و بانوی در سنین بارآوری.

گروه سنی	تعداد مثبت	در صد مثبت	تعداد منفی	در صد منفی	تعداد کل افراد
<= 19	41	56.16%	32	43.48%	73
25-20	88	69.30%	39	30.70%	127
30-26	37	74%	13	26%	50
>30	17	68%	8	32%	25
کل	183	66.55%	92	33.54%	275