

شیوع عفونت مادرزادی سیتومگالوویروس در نوزادان بستری در بخش مراقبت‌های ویژه در تهران، ایران

چکیده

دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۲۲ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۱/۲۷ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۵ آنلاین: ۱۴۰۲/۰۳/۰۱

زمینه و هدف: سیتومگالوویروس (CMV) شایعترین علت عفونت‌های مادرزادی در جهان بوده که به دلیل بروز و نمود دیر هنگام عوارض بیماری و محدودیت زمانی تشخیص عفونت به سه هفته آغازین پس از تولد، متأسفانه غالباً شناسایی نمی‌شود. خوشبختانه اخیراً زمینه تشخیص عفونت از طریق نمونه‌های خون موجود بروی کارت‌های گوتری نوزادان فراهم شده است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان شیوع عفونت در نوزادان بستری در بخش مراقبت‌های ویژه و نیز ارزیابی قابلیت تشخیصی کارت گوتری اجرا گردید.

روش بررسی: در این مطالعه مقطعی و در فاصله زمانی فروردین تا شهریور سال ۱۳۹۶، نمونه‌های کارت‌های گوتری نوزادان بستری در بیمارستان‌های تحت پوشش دانشگاه علوم پزشکی ایران جمع‌آوری و سپس جهت استخراج DNA ویروسی و ردیابی آن از روش‌های شوک حرارتی و Nested-PCR استفاده گردید. تایید نهایی نتایج نیز با آزمایش نمونه‌های ادراری به روش کمی صورت پذیرفت.

یافته‌ها: از مجموع ۶۳ نوزاد بررسی شده، هشت مورد ابتلا به عفونت مادرزادی سیتومگالوویروس مشاهده گردید (۱۲٪/۷). میزان ابتلا در نوزادان دارای علائم اختصاصی عفونت به شکل معناداری بیشتر از دیگر نوزادان بود (P=۰/۰۲). همچنین مقایسه نتایج به دست آمده براساس نمونه و روش انتخابی با نمونه و روش تشخیصی استاندارد، مشابهت ۱۰۰٪ نشان داد.

نتیجه‌گیری: با توجه به قابلیت پیشگیری از بروز برخی عوارض بلندمدت بیماری به کمک دارو و انجام مداخلات، شناسایی عفونت در نوزادان و به‌ویژه موارد بستری در بیمارستان مکرراً توصیه شده است. در این راستا استفاده از توان بالقوه نظام غربالگری موجود در تائید گسترده وسیعی از نمونه‌های در دسترس و ارزان، پیشنهاد می‌گردد.

کلمات کلیدی: عفونت مادرزادی سیتومگالوویروس، ایران، نوزادان.

ثمیله نوربخش^۱، محمد فرهادی^۲، سارا مینائیان^۳، مرتضی حقیقی حسن‌آباد^{۳*}

۱- گروه بیماری‌های عفونی کودکان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

۲- مرکز تحقیقات گوش حلق بینی و جراحی‌های سر و گردن، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

۳- مرکز تحقیقات مقاومت‌های میکروبی، پژوهشکده ایمنولوژی و بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی ایران، پژوهشکده ایمنولوژی و بیماری‌های عفونی، مرکز تحقیقات مقاومت‌های میکروبی.

تلفن: ۰۲۱-۶۶۵۱۶۰۴۹

E-mail: mhaghghi.v@gmail.com

مقدمه

این عفونت همچنین شایعترین علت غیرژنتیکی کم‌شنوایی در کودکان محسوب شده که غالباً نیز شروع آن با تاخیر همراه بوده و به همین دلیل در غربالگری شنوایی نوزادان در بدو تولد قابل‌شناسایی نمی‌باشد.^۱ متأسفانه عوارض ناشی از ابتلا به عفونت مادرزادی سیتومگالوویروس (CMV) از قبیل درگیری سیستم اعصاب مرکزی و به دنبال آن اختلالات ذهنی-حرکتی و یا ناتوانی‌های شناختی می‌تواند

سیتومگالوویروس (Cytomegalovirus, CMV) به‌عنوان شایعترین عامل ایجاد عفونت‌های مادرزادی در جهان شناخته می‌شود که در نوزادان از حالت بدون علامت (در بیشتر موارد) تا فرم‌های شدید و حاد و یا حتی به صورت مرگ تظاهر می‌یابد.^۱

بستری در بخش‌های ویژه نوزادی شهر تهران به‌عنوان یکی از گروه‌های حساس و در معرض خطر بررسی نموده و ضمناً اقدام به ارزیابی ارزش تشخیصی کارت گوتری جهت تشخیص عفونت در این نوزادان نماییم.

روش بررسی

در فاصله زمانی فروردین تا شهریور سال ۱۳۹۶، فرایند نمونه‌گیری به‌مدت شش ماه از نوزادانی که در بخش‌های ویژه نوزادی بیمارستان‌های تحت‌پوشش دانشگاه علوم پزشکی ایران بستری شده بودند انجام شد. نمونه‌گیری به‌روش تصادفی صورت گرفته و معیارهای خروج از مطالعه نیز به‌ترتیب شامل عدم‌دسترسی و یا فقدان کارت گوتری نوزادی، داشتن سن بیشتر از ۲۱ روز و وجود تشخیص پیشین مبنی بر ابتلا به‌عفونت سیتومگالوویروس (CMV) توسط پزشک متخصص اطفال تعریف گردید.

کلیه مراحل و پروتکل‌های اجرایی پژوهش حاضر در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی ایران تایید شده و از والدین نوزادان نیز رضایت‌نامه اخلاقی جهت حضور و شرکت در این تحقیق با کد اخلاق IR.IUMS.REC.۱۳۹۶.۲۵۷۰۸ دریافت گردید. همچنین پس از دریافت و ثبت اطلاعات مرتبط با وضعیت نوزادان (جنسیت، وزن، قد، علایم بیماری و غیره) و نیز برخی شاخصه‌های مادری (سن، هفته بارداری و غیره)، بروشور حاوی اطلاعات مربوط به بیماری و نیز راه‌های مقابله و پیشگیری در زمان بارداری به والدین نوزادان ارائه گردید. نمونه‌برداری و آماده‌سازی کارت‌های گوتری نوزادان توسط کارشناسان مراکز بهداشت حاضر در بیمارستان و براساس پروتکل استاندارد و مشخص ارائه‌شده توسط وزارت بهداشت به انجام رسید. به این منظور تعداد پنج قطره خون از پاشنه پای نوزاد بر روی کارت گوتری چکانده شده و پس از خشک شدن لکه‌های خون در مجاورت هوای محیطی به‌مدت ۲۴ ساعت، جهت انجام آزمایشات غربالگری بدو تولد به آزمایشگاه رفرانس دانشگاه علوم پزشکی ایران ارسال شد. پس از انجام تست‌های مربوطه بر روی این لکه‌های خونی که اصطلاحاً به آنها (Dried blood spot, DBS) گفته می‌شود، الباقی نمونه موجود بر روی کارت‌ها توسط قیچی بریده شده و در داخل کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار (حاوی دسیکاتور یا خشک‌کننده) به

در تمامی افراد مبتلا (اعم از بدون علامت یا علامت‌دار) ایجاد شود که این امر منجر به تحمیل صدمات و خسارات جبران‌ناپذیری به فرد و سیستم سلامت جامعه می‌گردد.^۳ بر این اساس میزان خسارت ناشی از عفونت مادرزادی سیتومگالوویروس (CMV) در کشور ایالات متحده سالیانه رقمی در حدود ۱/۸۶ میلیارد دلار برآورد شده است.^۴ خوشبختانه نتایج کارآزمایی‌های بالینی صورت گرفته بر روی افراد مبتلا نشان می‌دهد که در صورت تشخیص زودهنگام عفونت و به‌دنبال آن انجام مداخلاتی از قبیل تمرین‌های آواشناسی و توسعه مهارت‌های گفتاری و تکلمی در سنین پایین می‌توان موجب درمان و بهبود هرچه سریع‌تر عوارض حاصله در این کودکان شده و از پیشرفت بیماری به شکل موثری جلوگیری نمود.^۵

گزارش‌های موجود میزان شیوع جهانی عفونت مادرزادی سیتومگالوویروس (CMV) را ۰/۲-۰/۲۲٪ در کشورهای مختلف نشان می‌دهد.^۶ در ایران نیز میزان شیوع از ۰/۳٪ (در نوزادان فاقد علامت) تا ۵۸٪ (در نوزادان دارای علایم اختصاصی عفونت) متفاوت گزارش شده است.^{۷،۸} البته شایان ذکر است در اکثر مطالعات پیشین انجام‌شده در زمینه بررسی شیوع عفونت‌های مختلف در ایران، از روش سنجش آنتی‌بادی‌های موجود در خون استفاده شده که به دلیل قابلیت عبور آنتی‌بادی‌ها در دوران جنینی از مادر به نوزاد، این نتایج غالباً همراه با نتایج مثبت کاذب می‌باشد.^{۹،۱۰}

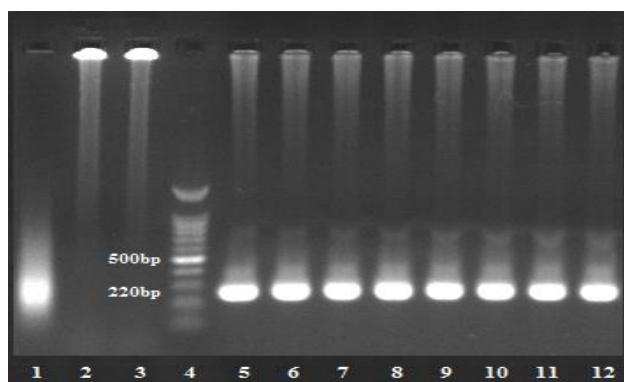
در سال‌های اخیر شناسایی عفونت مادرزادی سیتومگالوویروس (CMV) از طریق کارت‌های گوتری نوزادی که به‌صورت روتین برای شناسایی زودهنگام بیماری‌های دوران نوزادی استفاده می‌شود به تایید رسیده است که باعث شده تا به‌طور جدی در کشورهای پیشرفته موردتوجه قرار بگیرد. از جمله مهمترین مزیت این کارت‌ها در تشخیص عفونت می‌توان به بازه زمانی جمع‌آوری آن در هفته اول پس از تولد و همچنین دسترسی در طیف وسیع نوزادان یک کشور با کمترین هزینه اشاره نمود.^{۱۱}

از طرفی شروع دیرهنگام عوارض ناشی از عفونت مادرزادی سیتومگالوویروس (CMV) در سنین کودکی و نیز به‌دلیل مشترک بودن بسیاری از علایم و تظاهرات بالینی عفونت با دیگر بیماری‌های دوران نوزادی اغلب منجر به عدم تشخیص صحیح و به‌موقع در نوزادان علامت‌دار همچون نوزادان بیمار به ظاهر سالم می‌گردد. لذا در این مطالعه برآن شدیم تا میزان شیوع عفونت را در جمعیت نوزادان

گردید.^{۱۵} به‌طور خلاصه، در طی انجام PCR اولیه و با استفاده از پرایمرهای (Outer 1&2)، یک قطعه ۴۵۰ جفت بازی از ژنوم ویروسی تکثیر و سپس در طی انجام PCR ثانویه، یک ناحیه ۲۲۰ جفت بازی با استفاده از پرایمرهای (Inner 1&2) در داخل محصول PCR اولیه تکثیر شده و پس از الکتروفورز، زیر نور UV مورد شناسایی قرار گرفت (شکل ۱).

در مرحله بعد پس از تایید و مثبت شدن نتیجه آزمایش با استفاده از نمونه ادراری، به والدین نوزاد مربوطه اطلاع‌رسانی شده و در خصوص انجام اقدامات تکمیلی بعدی (مداخله‌های توسعه و تکامل زبانی در نوزاد و غیره) توضیحات لازم به آنها ارائه گردید.

در این مطالعه از آب مقطر و همچنین نمونه‌های خون نوزادان سالم و مبتلا به عفونت به‌عنوان کنترل منفی و مثبت در آزمایشات تشخیصی استفاده شد. (براساس نتایج منفی و مثبت تست تشخیصی عفونت سیتومگالوویروس (CMV) که با توجه به درخواست پزشک معالج نوزاد مشکوک به عفونت در آزمایشگاه تشخیص طبی انجام شد). در روش بررسی سه‌تایی نمونه‌ها، چنانچه در دو از سه تست انجام‌شده بر روی یک نمونه نتیجه مثبت مشاهده می‌شد، نتیجه نهایی به‌صورت مثبت و در صورت مشاهده موارد مثبت در یکی از سه تست، آزمایشات مجدداً از ابتدا انجام می‌گرفت.



شکل ۱. تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR نهایی تکثیر ژن گلیکوپروتئین B سیتومگالوویروس (شماره ۱- کنترل مثبت آزمایش حاوی قطعه ۲۲۰ جفت بازی تکثیر شده از ژن گلیکوپروتئین B (نمونه خون دریافت‌شده از نوزاد مبتلا به عفونت تاییدشده سیتومگالوویروس)، شماره ۲- کنترل منفی آزمایش (نمونه خون دریافت‌شده از نوزاد سالم)، شماره ۳- کنترل منفی آزمایش (نمونه حاوی آب‌مقطر)، شماره ۴- خط‌کش ۱۰۰ جفت بازی، شماره‌های ۵ تا ۱۲- نمونه‌های خون دریافت‌شده از نوزادان شرکت‌کننده در پژوهش حاضر که به عفونت سیتومگالوویروس مبتلا بودند).

آزمایشگاه تحقیقاتی پژوهشگاه ایمونولوژی و بیماری‌های عفونی دانشگاه علوم پزشکی ایران منتقل گردید.

نمونه‌های ادراری نوزادان نیز از طریق قراردادن کیسه‌های استریل مخصوص در داخل پوشک نوزاد جمع‌آوری شده و پس از انتقال به ظروف درب‌دار مخصوص، در پایان هر روز به آزمایشگاه منتقل و پس از سانتریفیوژ در ۸۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه، رسوب حاصل از آن تا زمان انجام آزمایشات مولکولی تشخیصی در یخچال (دمای ۴-۸°C) نگهداری شد.^{۱۲} از این نمونه‌ها به‌عنوان تست تاییدی نتایج آزمایشات اولیه صورت گرفته بر روی کارت گوتی استفاده شده و تمامی مراحل اجرایی آن با استفاده از کیت‌های تشخیصی معتبر (CE-IVD Certificate) و براساس دستورالعمل‌های اجرایی ارائه‌شده توسط شرکت سازنده (CMV R-GENE kit, Biomerieux, France) انجام شد.^{۱۳}

استخراج DNA از نمونه‌های کارت گوتی، با توجه به مقدار اندک نمونه خون موجود بر روی کارت‌های گوتی (حداکثر ۵۰ μ.Lit)، از روش استخراج شوک حرارتی (Heat-shock protocol) برپایه تست سه تایی (Triplicate assay) به‌عنوان حساس‌ترین و با کیفیت‌ترین روش معرفی شده در مطالعات گذشته استفاده شد.^{۱۴} به‌طور خلاصه، تعداد سه پانچ ۳ mm از نمونه DBS به داخل سه میکروتیوب مجزا حاوی ۳۵ μ.Lit بافر (Minimum essential buffer, MEM) پانچ و در بافر غوطه‌ور گردید. پس از سانتریفیوژ تیوب‌ها در ۳۰۰۰ دور (۱۵ دقیقه) و قرارگیری در یخچال به مدت ۱۲ ساعت، نمونه‌ها تحت شرایط دمایی ۵۵ درجه سانتیگراد (یک ساعت)، ۱۰۰ درجه سانتیگراد (هفت دقیقه) و چهار درجه سانتیگراد (دو دقیقه) در دستگاه ترموسایکلر قرار گرفت.

در مرحله بعد تیوب‌ها بلافاصله در ۳۳۲۰ دور (به مدت ۱۵ دقیقه) سانتریفیوژ شده و مقدار ۲۰ μ.Lit از مایع رویی (حاوی DNA) به میکروتیوب جدید منتقل شد. در پایان به‌جهت بالابردن کیفیت استخراج، نمونه‌ها به مدت هشت ساعت در فریزر منفی ۸۰ درجه سانتیگراد نگهداری گردید.

آزمایش تشخیصی PCR به این صورت است که جهت ردیابی DNA ویروسی موجود در نمونه‌های DBS، از روش حساس Nested-PCR و به‌کمک پرایمرهای اختصاصی طراحی شده جهت شناسایی ژن گلیکوپروتئین B سیتومگالوویروس (CMV) استفاده

جدول ۱: توالی پرایمرهای Nested-PCR تشخیصی ژن گلیکوپروتئین B سیتومگالوویروس (CMV)

اندازه	توالی (5'-3')	PCR
۴۵۰	ACAGACACAAAACAGCACCCA TAAGGTGACGACAGGTTGGC	Nested-PCR اولیه PCR (Outer1&2)
۲۲۰	ACACGCATACCTCAACACC GGCCCATGGTTCGAAGCG	ژن گلیکوپروتئین B سیتومگالوویروس ثانویه PCR (Inner1&2)
۱۱۰	ACACAACGTGTTCCTACTAGC CAACTTCATCCACGTTTCACC	ژن بتاگلوبین انسانی (PCO3&4)

پنج نفر عفونت مادرزادی سیتومگالوویروس (CMV) شناسایی شد (۱۶/۶٪) و این آمار در گروه دختران به تعداد ۳ (۹٪) نفر مشاهده گردید. همچنین در بررسی نوزادان به لحاظ وجود ارتباط احتمالی میان علائم اختصاصی عفونت با وضعیت ابتلا، نتایج به دست آمده حاکی از تفاوت معنادار آماری در میان دو گروه می باشد، به طوری که شانس مثبت بودن نتیجه آزمایش نوزادان علامت دار بستری در بخش های ویژه نوزادی نسبت به نوزادان بدون علامت در حدود ۱۱ برابر بیشتر بود (OR=۱۱/۳). علاوه بر این مقایسه میانگین اندازه دور سر در دو گروه مبتلا به عفونت و فاقد عفونت به لحاظ آماری تفاوت معناداری داشت.

نتایج حاصل از آزمایش نمونه های اداری نوزادان با استفاده از روش کمی دارای تاییدیه سازمان بهداشت جهانی در تمام موارد موید نتایج اولیه به دست آمده با استفاده از نمونه انتخابی کارت گوتری و روش های تشخیصی به کاررفته جهت شناسایی ژنوم ویروسی در این نمونه ها بود. براین اساس هیچ مورد مثبت یا منفی کاذبی در آزمایشات تاییدی ثبت نشد که حاکی از حساسیت و اختصاصیت ۱۰۰٪ نمونه DBS در تشخیص عفونت می باشد.

با توجه به اطلاعات مندرج در پرونده های پزشکی نوزادان مبتلا به عفونت سیتومگالوویروس (CMV)، مواردی همچون زردی، پتشی و محدودیت رشد داخل رحمی در اغلب این نوزادان مشاهده گردید. همچنین براساس نتایج حاصل از آزمایشات تخصصی، اختلالاتی از قبیل هپاتومگالی و اسپلنومگالی، هیدروسفالی، پانسیتوپنی و سندروم دیسترس تنفسی در نوزادان مبتلا به عفونت شناسایی شد. علاوه بر این نتایج مربوط به غربالگری اولیه شنوایی سنجی (Otoacoustic emissions, OAE) در دو نفر از نوزادان مبتلا به عفونت مادرزادی سیتومگالوویروس (CMV) به صورت رد شده

همچنین به منظور جلوگیری از کسب نتایج منفی کاذب ناشی از بروز خطا در فرایند استخراج DNA و یا خطای حین آماده سازی نمونه ها، یک قطعه ۱۱۰ جفت بازی از ژن بتاگلوبین انسانی با استفاده از پرایمرهای PCO3&PCO4 (جدول ۱) و براساس روش ارائه شده در مطالعات گذشته مورد شناسایی قرار گرفت.^{۱۶} در داده های کمی از ابزار آماری میانگین و t-test جهت ارائه و مقایسه اطلاعات مربوط به نوزادان استفاده گردید. برای بررسی ارتباط میان متغیرهای کیفی در نوزادان و همچنین بررسی تاثیر متغیرهای مستقل مربوط به شاخصه های دموگرافیک مادری بر پیامد تولد نوزاد مبتلا به عفونت از Fisher's exact test و Chi-square test استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از MedCalc software, MedCalc Software Ltd, Belgium, Version 20 و با در نظر گرفتن سطح معناداری P کمتر از ۰/۰۵ صورت گرفت.^{۱۷}

یافته ها

در این مطالعه از ۶۷ نوزاد بستری در بخش های ویژه نوزادی نمونه گیری صورت گرفت که از این تعداد چهار نفر به دلیل مخدوش شدن نمونه یا خطای کدگذاری از مطالعه حذف شدند. با انجام آزمایشات تشخیصی اولیه و تایید نهایی، نتیجه تست در هشت نفر مثبت بود که بر این اساس میزان شیوع عفونت مادرزادی سیتومگالوویروس (CMV) در جمعیت نوزادان بستری در بخش های ویژه نوزادی برابر با ۱۲/۷٪ (فاصله اطمینان ۹۵٪، ۵/۴-۲۵/۰) ثبت گردید. در مجموع میزان شیوع عفونت در جمعیت پسران بیشتر از دختران بود، به طوری که از تعداد ۳۰ نوزاد پسر مورد بررسی، در

بحث

یکی از عوامل اصلی تورچ (Torch) سیتومگالوویروس (CMV) می‌باشد که در کنار عفونت روبلا از جمله عفونت‌های شایع داخل رحمی در زنان باردار شناخته شده که می‌تواند از طریق جفت به جنین منتقل شده و منجر به بروز عفونت‌های بدون علامت و علامت‌دار در نوزادان بدو تولد گردد.^{۱۹،۱۸}

براساس نتایج حاصل از انجام این تحقیق، میزان شیوع عفونت مادرزادی سیتومگالوویروس (CMV) در جمعیت نوزادان پرخطر بستری در بخش‌های ویژه نوزادی بیمارستان‌ها و مراکز درمانی شهر تهران برابر با ۱۲/۷٪ می‌باشد. همچنین با توجه به اطلاعات ارائه شده در جدول ۲، میزان شیوع عفونت در جمعیت موردبررسی به تفکیک وجود یا عدم وجود علائم اختصاصی برابر با ۲۵٪ و ۲/۸٪ به دست آمد. در این رابطه می‌توان به یافته‌های دو مطالعه قبلی انجام شده در شهر تهران که میزان ابتلا به عفونت حاد سیتومگالوویروس (CMV) را در نوزادان مشکوک به عفونت‌های تورچ و نوزادان دارای علائم و نشانه‌های اختصاصی عفونت به ترتیب برابر با ۴۱٪ و ۵۸٪ گزارش نموده‌اند اشاره نمود.^{۲۰،۸}

تفاوت‌های موجود در جمعیت هدف موردبررسی و نیز معیارهای ورود و خروج از مطالعه را شاید بتوان از دلایل اصلی متفاوت بودن نتایج منتشر شده فوق با یافته‌های مطالعه حاضر دانست. همچنین تفاوت در نوع نمونه موردبررسی (نمونه سرم) و یا روش تشخیصی انتخابی (روش سرولوژی) که از حساسیت و اختصاصیت کمتری برخوردار بوده و با نتایج منفی کاذب زیادی در تشخیص همراه است نیز می‌تواند از دیگر دلایل بیشتر بودن میزان شیوع در مطالعه اول باشد.^{۲۱}

در مقایسه با وضعیت عفونت در دیگر کشورها، شیوع مشاهده شده در این مطالعه را می‌توان با نتایج دو مطالعه صورت گرفته در کشورهای هلند و ژاپن مقایسه نمود که براساس آن میزان عفونت در جمعیت نوزادان دارای یکی از علائم اختصاصی عفونت از قبیل نقص شنوایی و یا ناهنجاری‌ها و غیره را پس از آزمایش نمونه‌های کارت گوتتری و نمونه ادراری به ترتیب برابر با ۲۳٪ و ۳۰٪ گزارش شده است.^{۲۳،۲۲} از دیگر یافته‌های حاصل از انجام این پژوهش می‌توان به تفاوت معنادار نرخ شیوع عفونت در میان نوزادان علامت‌دار و

(Failed) بود که این وضعیت در تست‌های ثانویه OAE و Auditory) (Auditory) brainstem response, ABR) به تایید رسید.

دیگر اطلاعات و جزئیات مربوط به نوزدان و شاخصه‌های مادری آنان و مقایسه صورت گرفته براساس نتایج آزمایشات تشخیصی عفونت مادرزادی سیتومگالوویروس (CMV) در جدول‌های ۲ و ۳ قابل مشاهده می‌باشد.

جدول ۲: اطلاعات نوزادان شرکت‌کننده در مطالعه در دو گروه مبتلا به عفونت سیتومگالوویروس و فاقد عفونت.

P*	سیتومگالوویروس			
	منفی	مثبت		
۰/۴	۲۵	۵	پسر	جنسیت
	۳۰	۳	دختر	
۰/۰۲	۲۱	۷	بلی	علائم اختصاصی عفونت
	۳۴	۱	خیر	
۰/۱	۴۶/۰±۴/۵	۴۶/۰±۱/۹	انحراف معیار	میانگین قد
۰/۰۸	۲۳۹۴/۹۵±۰/۳	۲۳۳۱/۷۹±۳/۵	انحراف معیار	میانگین وزن
<۰/۰۵	۳۳/۰±۹/۴	۳۳/۰±۱/۶	انحراف معیار	میانگین دور سر

*آزمون آماری: Fisher's exact test, Chi-squared test, t-test و Significant, P≤۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

جدول ۳: مقایسه شاخصه‌های دموگرافیک مادری در دو گروه نوزادان مبتلا به عفونت سیتومگالوویروس و فاقد عفونت.

P*	سیتومگالوویروس			
	منفی	مثبت		
۰/۴	۳۱	۶	۳۷ هفته ≤	هفته تولد
	۲۴	۲	۳۷ هفته >	
۰/۶	۴۰	۵	۲۷ سال ≤	سن مادر
	۱۵	۳	۲۷ سال >	
۰/۴	۳۵	۴	خانه‌دار	وضعیت شغلی
	۲۰	۴	کارمند	
۰/۷	۱۷	۳	بلی	سابقه سقط جنین
	۳۸	۵	خیر	

*آزمون آماری: Fisher's exact test

با توجه به محدودیت زمانی تشخیص قطعی این عفونت به ۲۱ روز آغازین زندگی، در سال‌های اخیر موضوع اضافه شدن آن به فهرست بیماری‌های مورد آزمایش در برنامه غربالگری نوزادان بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در واقع به علت مزایای زیاد این کارت‌ها که علاوه بر دسترسی وسیع و آسان به نمونه مورد آزمایش، مواردی همچون راحتی و عدم نیاز به زنجیره سرمایی جهت انتقال و جابه‌جایی نمونه و یا کم‌خطر بودن و ماندگاری بالا می‌باشد، از این نمونه‌ها به‌عنوان گزینه مطلوب جهت اجرای گسترده و جامع غربالگری عفونت در نوزادان بدو تولد یاد می‌شود.^{۲۸}

با توجه به مستندات موجود، مطالعه حاضر در زمره اولین تحقیقات انجام شده در ایران محسوب می‌شود که از کارت گوتری نوزادی جهت شناسایی عفونت مادرزادی سیتومگالوویروس (CMV) در جمعیت نوزادان بستری در بخش مراقبت‌های ویژه استفاده شده است.

بر اساس یافته‌های حاصل از این پژوهش نرخ شیوع عفونت در جامعه هدف مورد مطالعه برابر با ۱۲/۷٪ به دست آمد که بیانگر رخداد بالای عفونت در این افراد می‌باشد. علاوه بر این در نوزادان مبتلا به عفونت مادرزادی سیتومگالوویروس (CMV) در این مطالعه دو مورد نقص شنوایی مشاهده شد که نشان‌دهنده نقش این ویروس به‌عنوان یکی از علت‌های اصلی کاهش شنوایی در بدو تولد می‌باشد.

در پایان با توجه به پرخطر بودن نوزادان تحت بررسی به لحاظ ابتلا به بیماری‌های دیگر و نیز وجود علائم بالینی متعدد، بررسی و پایش مستمر وضعیت اپیدمیولوژیک عفونت در این گروه از نوزادان توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه تحت عنوان "طراحی روش شناسایی حساس و دقیق جهت انجام غربالگری عفونت مادرزادی سیتومگالوویروس (CMV) در نوزادان بدو تولد از طریق آزمایش کارت گوتری و تعیین هزینه/فایده در پیگیری دو ساله بیماران" در مقطع دکترای تخصصی باکتری شناسی در سال ۱۴۰۰ و با کد ۲۵۷۰۸ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران اجرا شده است.

بدون علامت بستری در بخش‌های ویژه نوزادی اشاره نمود. همچنین تفاوت چشمگیری در میانگین اندازه دور سر نوزادان مبتلا به عفونت با دیگر نوزادان بستری در این بخش مشاهده شد. اگرچه این تفاوت‌های آماری در بررسی دیگر فاکتورها و متغیرهای خطر احتمالی اعم از نوزادی و یا مادری دیده نشد.

در راستای نتایج فوق می‌توان به برخی گزارشات موجود از مطالعاتی که در ایران و یا دیگر کشورها صورت گرفته است اشاره نمود. به‌عنوان مثال در مطالعه Karimian و همکاران در شهر اصفهان نیز اندازه دور سر در نوزادان مبتلا به عفونت علامت‌دار تفاوت چشمگیری با نوزادان سالم داشته و این اختلاف آماری در بقیه شاخص‌ها از قبیل اندازه قد یا وزن نوزادان مشاهده نگردید.^{۲۹} همچنین در بررسی نوزادان در کشور ایالات متحده نیز هیچ‌گونه تفاوت آماری معناداری بین میانگین اندازه قد و یا وزن در دو گروه سالم و مبتلا به عفونت گزارش نشد.^{۲۵}

به‌طور کلی میزان حساسیت نمونه DBS یا همان خون خشک‌شده موجود بر روی کارت گوتری نوزادان جهت تشخیص عفونت مادرزادی سیتومگالوویروس (CMV) ۱۰۰٪-۲۸ در مطالعات مختلف عنوان شده است.^{۲۶} لذا در این مطالعه جهت بررسی صحت نتایج به دست آمده اولیه، از نمونه‌های ادراری که گلد استاندارد تشخیص عفونت محسوب می‌شوند نیز استفاده گردید. بر این اساس نتایج به دست آمده در هر دو نمونه مورد بررسی کاملاً منطبق با یکدیگر بوده و هیچ مورد مثبت یا منفی کاذبی در آزمایشات تاییدی ثبت نشد که حاکی از حساسیت و اختصاصیت ۱۰۰٪ نمونه DBS در تشخیص عفونت می‌باشد.

از دلایل اصلی تشخیص ۱۰۰٪ موارد ابتلا در این مطالعه می‌توان به عواملی همچون به‌کارگیری روش‌های شوک حرارتی و Nested-PCR که از آنها به‌عنوان حساس‌ترین روش‌های استخراج DNA و ردیابی ژنوم ویروس در مطالعات یاد شده است اشاره نمود.^{۲۷} اگرچه در کنار این موارد باید به انتخاب جمعیت هدف مورد بررسی که شامل نوزادان پرخطر بستری در بخش‌های ویژه بودند و دارای لود ویروسی بالاتری در خون مورد آزمایش می‌باشند نیز اشاره کرد.^{۱۰}

References

1. Revello MG, Tibaldi C, Masuelli G, Frisina V, Sacchi A, Furione M, et al. Prevention of Primary Cytomegalovirus Infection in Pregnancy. *E Bio Medicine* 2015; 2(9):1205-10
2. Dollard SC, Grosse SD, Ross DS. New estimates of the prevalence of neurological and sensory sequelae and mortality associated with congenital cytomegalovirus infection. *Reviews in Medical Virology* 2007; 17: 355–363.
3. Woolf SH, Harris R. The harms of screening: new attention to an old concern. *JAMA* 2012; 307: 565–566.
4. Modlin JF, Arvin AM, Fast P, Myers M, Plotkin S, Rabinovich R. Vaccine development to prevent cytomegalovirus disease: report from the National Vaccine Advisory Committee. *Clinical Infectious Diseases* 2004;39(2):233-9.
5. Ross SA, Fowler KB, Ashrith G, Stagno S, Britt WJ, Pass RF, Boppana SB. Hearing loss in children with congenital cytomegalovirus infection born to mothers with preexisting immunity. *The Journal of pediatrics* 2006;148(3):332-6.
6. Waters A, Jennings K, Fitzpatrick E, Coughlan S, Molloy EJ, De Gascun CF, Hall WW, Knowles SJ. Incidence of congenital cytomegalovirus infection in Ireland: implications for screening and diagnosis. *Journal of Clinical Virology* 2014;59(3):156-60.
7. Fahimzad A, Afgeh SA, Eghbali E, Abdinia B, Shiva F, Rahbar M. Screening of congenital CMV infection in saliva of neonates by PCR: report of a pilot screening study in Iran. *Clin Lab* 2013;59(9-10):1171-4.
8. Ebrahimi-Rad M, Shakeri TS, Shirvani F, Shahrokhi K, Shahrokhi N. Prevalence of congenital cytomegalovirus infection in symptomatic newborns under 3 weeks in Tehran, Iran. *BMC Infectious Diseases* 2017;17:1-7.
9. Clemens CJ, Davis SA, Bailey AR. The false-positive in universal newborn hearing screening. *Pediatrics* 2000;106(1):e7-.
10. Esteghamati A, Sayyahfar S, Khanaliha K, Tavakoli A, Naghdalipoor M, Haghghi Hasanabad M. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection and evaluation of its genotypes among pregnant women in Tehran, Iran. *Iran J Microbiol* 2022;14(6):820-824.
11. Wang S, Wang T, Zhang W, Liu X, Wang X, Wang H, He X, Zhang S, Xu S, Yu Y, Jia X. Cohort study on maternal cytomegalovirus seroprevalence and prevalence and clinical manifestations of congenital infection in China. *Medicine* 2017;96(5).
12. Esteghamati A, Badamchi A, Naghdalipoor M, Faramarzi M, Haghghi Hasanabadi M, Tabatabaei A. Prevalence of Mycoplasma genitalium and Ureaplasma urealyticum in pregnant women. *Tehran University Medical Journal TUMS Publications* 2018; 76(8):568-74.
13. Noorbakhsh S, Farhadi M, Haghghi F, Minaeian S, Hasanabad MH. Neonatal screening for congenital cytomegalovirus infection in Tehran, Iran, using Guthrie cards. *Iranian Journal of Microbiology* 2020;12(3):198.
14. Binda S, Caroppo S, Didò P, Primache V, Veronesi L, Calvario A, Piana A, Barbi M. Modification of CMV DNA detection from dried blood spots for diagnosing congenital CMV infection. *Journal of clinical virology* 2004;30(3):276-9.
15. Noorbakhsh S, Joghataei MT, Farhadi M, Haghghi F, Emam-jomeh H, Hasanabad MH. Assessment of hearing loss in two-year follow-up study of neonates with congenital cytomegalovirus infection. *Iranian Journal of Child Neurology* 2022;16(2):17.
16. Yousefi A, Eslami S, Noorbakhsh S, Haghghi M, TaheriNia L, Ehsanipour F, Ashouri S. The resistance rate of Helicobacter pylori to clarithromycin and main mutations on bacterial genomic responsible for bacterial resistance: a comparative study in children and adults, Tehran and Iran. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)* 2019;19(4):394-7.
17. Fathollahzadeh B, Bahador A, Majnooni A, Kamalimanesh B, Moshkani S, Hasanabad MH. Screening of Chlamydia trachomatis infection in men, is it necessary in Iran?. *Jundishapur Journal of Microbiology* 2013;6(10).
18. Monavari SH, Keyvani H, Kiasari BA, Mollaei H, Fazlalipoor M, Vaziri MS, Fallah FO. Detection of cytomegalovirus (CMV) antibodies or DNA sequences from ostensibly healthy Iranian mothers and their neonates. *Int J Med Med Sci* 2012;4(8):155-59.
19. Noorbakhsh S, Rabiei AA, Rahbarimanesh AA, Haghghi M, Ashouri S. Searching the Staphylococcal toxic shock syndrome toxin-1 in septic children with negative cultures: A comparative study in Tehran, Iran. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)* 2021; 21(2):187-92.
20. Noorbakhsh S, Farhadi M, Siadati A. Study of Torch suspected infants. *Iranian J. of Pediatrics* 2002; 15: 56.
21. Rajaii M, Nezami N, Pourhassan A, Naghili B, Fardiazar Z, Farzadi L. Serological ELISA test (IgM & IgG) for prospective Study of cytomegalovirus (CMV) infection in pregnant women. *Iranian Journal of Public Health* 2009;38(3):109-12.
22. Korver AM, de Vries JJ, Konings S, de Jong JW, Dekker FW, Vossen AC, Frijns JH, Oudesluis-Murphy AM, DECIBEL Collaborative Study Group. DECIBEL study: Congenital cytomegalovirus infection in young children with permanent bilateral hearing impairment in the Netherlands. *Journal of Clinical Virology* 2009;46:S27-31.
23. Koyano S, Inoue N, Oka A, Moriuchi H, Asano K, Ito Y, Yamada H, Yoshikawa T, Suzutani T, Japanese Congenital Cytomegalovirus Study Group. Screening for congenital cytomegalovirus infection using newborn urine samples collected on filter paper: feasibility and outcomes from a multicentre study. *BMJ open* 2011;1(1):e000118.
24. Karimian P, Yaghini O, Nasr Azadani H, Mohammadzadeh M, Arabzadeh SA, Adibi A, Rahimi H. Prevalence, characteristics, and one-year follow-up of congenital cytomegalovirus infection in Isfahan City, Iran. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases* 2016;2016.
25. Kenneson A, Cannon MJ. Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (CMV) infection. *Reviews in medical virology* 2007;17(4):253-76.
26. de Vries JJ, Barbi M, Binda S, Claas EC. Extraction of DNA from dried blood in the diagnosis of congenital CMV infection. *Diagnosis of Sexually Transmitted Diseases: Methods and Protocols* 2012:169-75.
27. Soetens O, Vauloup-Fellous C, Foulon I, Dubreuil P, De Saeger B, Grangeot-Keros L, Naessens A. Evaluation of different cytomegalovirus (CMV) DNA PCR protocols for analysis of dried blood spots from consecutive cases of neonates with congenital CMV infections. *Journal of Clinical Microbiology* 2008;46(3):943-6.
28. Atkinson C, Emery VC, Griffiths PD. Development of a novel single tube nested PCR for enhanced detection of cytomegalovirus DNA from dried blood spots. *Journal of virological methods* 2014;196:40-4.

Prevalence of congenital cytomegalovirus infection in newborns admitted to the intensive care units in Tehran, Iran

Samileh Noorbakhsh M.D.¹
 Mohammad Farhadi M.D.²
 Sara Minaeian Ph.D.³
 Morteza Haghighi Hasanabad
 Ph.D.^{3*}

1- Department of Pediatric Infectious Diseases, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
 2- ENT Head and Neck Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
 3- Antimicrobial Resistance Research Center, Institute of Immunology and Infectious Diseases, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

* Corresponding author: Antimicrobial Resistance Research Center, Institute of Immunology and Infectious Diseases, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
 Tel: +98-21-66516049
 E-mail: mhaghighi.v@gmail.com

Abstract

Received: 11 Apr. 2023 Revised: 16 Apr. 2023 Accepted: 15 May. 2023 Available online: 22 May. 2023

Background: Cytomegalovirus (CMV) is the most common cause of congenital infections in newborns which can lead to long-term complications in more than half of the cases with symptomatic infection at birth time. Unfortunately, neonates with congenital CMV infection will mostly remain undiagnosed because the golden time for detection is limited to the first 3 weeks of infants' life. This study aimed to determine the prevalence of congenital CMV infection in newborns admitted to intensive care units of hospitals in Tehran, Iran and assess related risk factors associated with the infection.

Methods: In this cross-sectional study from April to October 2017, newborns within the first three weeks of life who were admitted to the neonatal intensive care units (NICUs) of university-affiliated hospitals in Tehran, Iran, were eligible for enrollment. CMV infection in neonates was diagnosed through testing infants' Guthrie cards and detection of viral DNA via an in-house nested-PCR assay. Congenital CMV infection in neonates with positive results was confirmed by testing urine specimens as a sensitive and gold standard sample. Related data (demographic and maternal factors) were collected by questionnaires and analyzed.

Results: Congenital cytomegalovirus infection was diagnosed in 8 of 63 newborns (12.7%). Hearing loss was seen in 2 infected infants. The mean of head circumferences among infected neonates was significantly lower than that observed in uninfected cases. Infants with CMV related symptoms had statistically more chance to have infection (P=0.02). We also found Guthrie cards as a reliable sample with high sensitivity for CMV detection assays.

Conclusion: The current study showed a high rate of symptomatic congenital CMV infection among neonates attending on NICU sections of hospitals in Tehran, Iran. It is of crucial importance to note that based on evidence, diagnosis of infants with congenital CMV infection at early stages could help to decrease the burden of long-term diseases if associated with prompt interventions and reduce the costs of late-ineffective treatment. Therefore, routine screening of newborns for congenital CMV infection via Guthrie cards is suggested.

Keywords: congenital cytomegalovirus infection, Iran, newborn.

