میزان ایمنی واکسیناسیون پولیو در کودکان گروه سنی ۱۰-۷ ساله شهرستان اهواز

دکتر منوچهر مکوندی[۱]، دکتر ناصر افضلی[۲]، دکتر محمداسماعیل مطلق[۲]، دکتر هوشنگ امینی[۱]

خلاصه

سابقه و هدف: نظر به این که ریشه‌کنی ویروس‌های پولیو تیپ‌های *II.I* و III ازاهداف اساسی سازمان بهداشت جهانی است و با کوشش و برنامه‌های متداول مسؤولان بهداشتی کشورمان نیز این امر در حال پوشش می‌باشد و از طرفی، کشورمان در شرایط حذف پولیو قرار دارد، از این رو ایمنی حاصل از واکسیناسیون پولیو خوراکی در کودکان واکسینه شده بسیار حایز اهمیت است، چون از وضعیت آن در منطقه اطلاعی در دست نیست. بنابراین، به منظور تعیین میزان ایمنی واکسیناسیون پولیو این تحقیق بر روی کودکان گروه سنی ۱۰-۷ ساله شهرستان اهواز انجام گرفت.

مواد و روشها: پژوهش حاضر با روش توصیفی بر روی ۳۲٤ سرم کودکان صورت پذیرفت. ابتدا ویروس‌های پولیو تیپ های *II.I* و III در محیط کشت سلولی Hela تکثیر داده شد بعد مراحل خالص‌سازی ویروس‌های پولیو توسط دستگاه اولترا سانتریفوژ ٤٠٠٠٠RPM برای مدت یک ساعت انجام گردید. جهت بررسی میزان تیتر آنتی‌بادی ویروس‌های پولیو به روش الیزا، میزان ۳۰ug (میکروگرم) آنتی‌ژن‌های ویروس‌های پولیو تیپ‌های *II.I* و III به حفرات پلیت الیزا اتصال (Coated) داده شد و آزمایش الیزا جهت تعیین میزان تیتر آنتی‌بادی پولی والانت پولیو ویروس‌ها به عمل آمد. شیوع ایمنی و عدم ایمنی در نمونه‌ها تعیین و در جامعه برآورد گردید.

یافته‌ها: تحقیق بر روی ۳۲٤ نفر به نسبت مساوی دختر و پسر و در سنین ۳±۸/٤ انجام گرفت. ۲۸۱ نفر (۸٦/۷ درصد) ازکودکان دارای آنتی بادی علیه ویروس‌های تیپ‌های *II.I* و III شدند. از لحاظ موارد میزان ایمنی اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های کودکان واکسینه شده گروه سنی ۱۰-۷ ساله مشاهده نگردید.

نتیجه‌گیری: ایمنی به طور نسبی خوبی در کودکان واکسینه شده ملاحظه و پیشنهاد می‌گردد مطالعات ایمنی واکسیناسیون در دیگر قشرهای جامعه چون روستایی‌ها نیز پی‌گیری شود.

واژگان کلیدی: ایمنی، واکسیناسیون، پولیو، ریشه کنی

[۱]- دانشگاه علوم پزشکی اهواز، بخش ویروس شناسی

[۲]- دانشگاه علوم پزشکی اهواز، بخش کودکان

مقدمه

ویروس‌های پولیوتیپ‌های *I.I* و III از گروه پیکوناویروس‌ها هستند(۱). نحوه سرایت این ویروس‌ها از طریق دستگاه گوارش صورت می‌گیرد. همچنین نقش تماس‌های نزدیک، آب و غذای آلوده در اپیدمی ویروس‌های پولیو نقش مهمی دارند(۲،۳).

ویروس‌های پولیو بعد از ورودشان در بدن از طریق گردش خون بافت‌های عصبی یا نخاعی به خصوص سلول‌های عصبی- حرکتی (Motor -nerve) شاخه قدامی را آلوده و از بین می‌برند و باعث فلج یکی از دو پا در فرد مبتلا می‌گردند(۱،۲). ویروس‌های پولیو در برخی موارد باعث بیماری‌های منتژیت و به طور نادر ممکن است باعث بیماری‌های گیلن باره یا قلبی در انسان می‌شوند(۴،۵).

از آن جایی که بیماری پولیومیلیت خاص بیماران می‌باشد، از این رو کودکانی که ایمنی مناسبی علیه ویروس‌های پولیوتیپ‌های *I.I* و III را نداشته باشند، در معرض ابتلا به عفونت‌های پولیومیلیت و یا دیگر عفونت‌های پولیو ویروس‌ها نیز هستند(۶).

با توجه به این که بیماری پولیومیلیت در برخی از کشورها مانند آمریکا ریشه‌کن شده است و طبق برنامه‌های سازمان بهداشت جهانی تا سال ۲۰۰۰ باید بیماری پولیومیلیت در جهان ریشه‌کن گردد(۷) و نظر به این که از وضعیت و میزان ایمنی در کودکان واکسینه شده پولیو اطلاعی در دست نیست. از این رو، به منظور تعیین میزان ایمنی واکسیناسیون خوراکی پولیو این تحقیق برروی کودکان گروه سنی ۱۰-۷ ساله شهرستان اهواز انجام گرفت.

مواد و روشها

تحقیق با روش توصیفی انجام گرفت. بر روی ۳۲۴ سرم کودکان پسر و دختر در گروه سنی ۱۰-۷ سال دانش‌آموز از منطقه پادادشهر اهواز صورت پذیرفت. نمونه‌های سرم‌ها تا قبل از انجام آزمایشهای الیزا در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

برای انجام آزمایش الیزا نیاز به خالص‌سازی ویروس‌های پولیوتیپ‌های *I.I* و III بود، از این رو ویروس‌های پولیو را ابتدا در محیط کشت سلولی **Hela** تکثیر گردیدند و برای خالص‌سازی آنها از دستگاه اولترا سانتریفوژ در دور **RPM** ۴۰۰۰۰ در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد برای مدت یک ساعت استفاده گردید(۸). میزان **۳۰ug** (میکرو گرم) از آنتی‌ژن‌های ویروس‌های پولیوتیپهای *I.I* و III که دارای حداکثر و حداقل جذب آنتی‌بادی‌های پولیو ویروس‌های تیپ‌های *I.I* و III را داشت توسط بافر کربنات بی‌کربنات **pH=۹/۶** به حفرات پلیت الیزا اتصال داده شد. محلول کونژگه (Anti- Human IgG+HRP) مورد استفاده در مراحل آزمایش الیزا نیز طبق Voller تهیه گردید(۹). مراحل انجام آزمایش سرولوژی الیزا جهت تشخیص آنتی‌بادی‌های پلی‌والانت علیه ویروس‌های پولیوتیپ‌های *I.I* و III طبق دستور Voller انجام شد(۹،۱۰) که به طور خلاصه میزان ۱۰۰ میکرولیتر سرم کودکان واکسینه شده به حفرات پلیت الیزا اضافه گردید و همزمان میزان ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های شاهد مثبت و منفی در حفرات پلیت الیزا قرار داده شدو بعد از انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، حفرات به میزان ۵ بار توسط بافر PBS با pH=۷/۲ شستشو شدند و در مرحله بعد میزان ۱۰۰ میکرولیتر محلول کونژگه به کلیه

حفرات اضافه گردید و بعد از انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کلیه حفرات توسط بافر PBS با pH=۷/۲ به میزان ۵ بار شستشو شدند. در مرحله آخر، محلول سوبسترا O- Phenelyne Diaminel (OPD) به میزان ۱۰۰ میکرو لیتر در کلیه حفرات اضافه گردید و بعد از قرار گرفتن به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، میزان ۵۰ میکرولیتر محلول اسیدسولفوریک ۱ نرمال به عنوان محلول متوقف کننده فعالیت آنزیمی به کلیه حفرات افزوده شد و نتیجه آزمایشها توسط دستگاه الیزا ریدر در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شد. محاسبه عدد Cuttoff طبق دستورالعمل بروشور هپاتواستیکا شرکت اورگانو هلند برآورد گردید(۱۱). میزان ایمنی واکسیناسیون شده در نمونه‌ها تعیین، در جامعه برآورد و نقش عوامل سن و جنس با میزان ایمنی نیز تعیین شد.

یافته‌ها

از ۳۲۴ کودک مورد بررسی، ۱۶۲ نفر (۵۰ درصد) آنها پسر و ۱۶۲ نفر (۵۰ درصد) دختر بودند. سن کودکان ۳±۸/۴ سال و از حداقل ۷ تا حداکثر ۱۰ سال بود. میزان ۳۰ug (میکروگرم) آنتی‌ژن‌های ویروس‌های پولیو اتصال داده شده به پلیت الیزا نشان داد که دارای حداقل و حداکثر جذب آنتی‌بادی‌های پلی‌والانت ویروس‌های پولیوتیپ‌های *I.I* وIII در سرم افراد واکسینه شده را در آزمایش الیزا از خود نشان داد، ۴۳ نفر پاسخ منفی داشتند و یا در ۸۶/۷ درصد افراد واکسینه شده ایمنی حاصل شده است. به این ترتیب شیوع عدم ایمنی در افراد واکسینه شده ۱۳/۳ درصد تعیین گردید. با توجه به این میزان در نمونه‌های مورد بررسی، شیوع واقعی آن در کودکان ۱۰-۷ ساله شهرستان اهواز با احتمال ۹۵ درصد از حداقل ۱۰ و حداکثر ۱۷ درصد برآورد می‌شود.

در جدول (۱) توزیع موارد مثبت و منفی ایمنی در کودکان واکسینه شده به تفکیک سن ارایه گردیده است و نشان می‌دهد که با افزایش سن موارد منفی آن اضافه شده است که این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

جدول ۱- توزیع کودکان واکسینه شده پولیو بر حسب ایمنی و به تفکیک سن کودکان در شهرستان اهواز

سن کودکان	تعداد نمونه	ایمنی منفی	ایمنی مثبت
۷ سال	۸۵	۱۲ (۱۴/۱)	۷۳ (۸۵/۹)
۸ سال	۸۵	۱۲ (۱۴/۱)	۷۳ (۸۵/۹)
۹ سال	۷۶	۱۰ (۱۳/۲)	۶۶ (۸۶/۸)
۱۰ سال	۷۸	۹ (۱۱/۵)	۶۹ (۸۸/۵)
جمع	۳۲۴	۴۳ (۱۳/۳)	۲۸۱ (۸۶/۷)

از ۱۶۲ نمونه سرم کودکان پسر دانش‌آموز، ۲۳ نفر (۱۴/۲ درصد) دارای آنتی‌بادی منفی‌پلی‌والانت پولیو ویروس‌ها بودند و ۱۳۹ نفر (۸۵/۸ درصد) دارای آنتی بادی مثبت پلی‌والانت مثبت ویروس‌های پولیو تیپ‌های *I.I* وIII شدند. از ۱۶۲ نمونه سرم کودکان دختر ۲۰ نفر (۱۲/۳ درصد) دارای آنتی‌بادی منفی پلی‌والانت پولیو ویروس‌ها و ۱۴۲ نفر (۸۷/۷ درصد) دارای آنتی‌بادی مثبت پلی‌والانت پولیو ویروس‌های تیپ‌های *I.I* وIII شدند. در این بررسی اختلاف معنی‌داری بین میزان آنتی‌بادی حاصل بعد از

واکسیناسیون در کودکان پسر و دختر مشاهده نگردید.

بحث

تحقیق نشان داد که میزان ایمنی در ۸۶/۷ درصد کودکان واکسینه شده وجود داشت. آمارهای گوناگونی در خصوص میزان ایمنی بعد از واکسیناسیون فلج اطفال گزارش شده است. در یک بررسی ایمنی واکسیناسیون توسط پولیو کشته شده تا حدود ۹۹ درصد در کودکان زیر ۵ سال بیان گردیده است(۱۲). در یک بررسی دیگر گزارش گردید که بعد از واکسیناسیون کودکان در سه نوبت توسط واکسن خوراکی، ۹۷ درصد کودکان واکسینه شده دارای ایمنی خوبی علیه هر سه نوع سوش ویروس‌های پولیو شدند(۱۳). عوامل زیادی وجود دارند که می‌توانند نقش مهمی در عدم ایجاد ایمنی مناسب درمراحل واکسیناسیون بازی کنند. از مهم‌ترین عوامل می‌توان به بروز عفونت‌ها سالمونلا، شیگلا و کمپیلوباکتر و با ویروس‌هایی چون آدنوتیپ‌های ۴۰،۴۱، آستروویروس وانتروویروس‌های غیر از پولیوویروس‌ها و روتاویروس‌ها در بیماران اشاره کرد(۱۴).

وجود آنتی‌بادی علیه ویروس‌های پولیوتیپ‌های *II.I* وIII نشان دهنده ایمنی علیه بیماری پولیو است. در حال حاضر دو نوع واکسن پولیو خوراکی [Oral Polio Vaccine (OPV)]وواکسن کشته شده پولیو[Inactivated Polio Vaccine(IPV)]وجود دارد و هر دو نوع واکسن پولیو مورد تایید سازمان بهداشت است و در کلیه کشورهای جهان استفاده می‌شوند. واکسن پولیو خوراکی یا قطره فلج که در کشورمان ساخته می‌شود و در امر واکسیناسیون در کودکان استفاده می‌گردد در این مطالعه ایمنی به طور نسبی خوبی از خود نشان داد و میزان ایمنی حدود ۸۶/۷۳ درصد در کودکان واکسینه شده با این واکسن ملاحظه شد.

تشکر و قدردانی

از ریاست محترم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اهواز که حمایت اساسی را در این تحقیق داشته‌اند، سپاسگزاری به عمل می‌آید.

References:

1- Bodian D. Emerging concept of polomyelitis infection. Science. 1995; 122: 105.
2- Bodian D. Histopathologic basis of the clinical findings in poliomyelitis. Am J Med. 1949; 6: 563.
3- Mabey DC. Paralytic poliomylitis in the Gambia: Lameness in urban children. Ann Trop Pediatr. 1981; 1: 45-9.
4- Horstman DM. Pual JR. The incubation period in human poliomyelities and its infection. J Am Med Assoc. 1974; 135: 11.
5- Weinstein L. Cardiovascular disturbances in polimyelitis. Circulation. 1957; 15: 735.
6- Melnick JL. Enteroviruses. In: Evans AS (Ed). Viral infections of humans epidemiolog and control. 2 nd ed . New york: Plenum; 1984: 187- 251.
7- Hill DR. Immunizations. Infec Dis Clin North Am. 1992; 6: 291.
8- Swarts TA. Use of combined DTP- Polio vaccine in a reduced schedule. Dev Biol Stand. 1986; 65: 159- 66.
9- Voller A. Biddwell DE. Bartlett A. ELISA techniques in virology. In: Howard CR (Ed). New developments in practical virology. New York: Alan R Liss; 1982: 59-81.
10-Lowery OH. Protein measurement with folin reagent. 1972: 193- 265.

11-Text book of the hepanostika anti-HBS, Micro ELISA system. Organon Technika, Holland, 1991; 3-11.
12-Simoes EA. John TJ. The antibody response of seronegative infants to inactivaed polimyelitis vaccine policy options. J Biol Stand. 1986; 14: 127-31.
13-Krugman RD. Antibody persistance after primary immunization with trivalant oral poliovirus vaccine. Pediatrics. 1997; 60: 82-2.
14-Madonado YA. Pena Cruz V. De- La Luz SM. Logan L. Blandon S. Cantwell MF. Host and viral faactors affecting the decreased immunogenicity of Sabin type 3 vaccine after administration of trivalent oral polio vaccine to rural Mayan children. J Infect Dis. 1997; 175: 545- 553.