NCMBJ
Research article

New Cell Mol Biotech
j.12/45 , 2022

Scan online to view this article

Polymerase Chain Reaction (PCR) technique for rapid detection of *Cytomegalovirus* in idiopathic abortions

Paria Aghaei[1], Akram Sadat Tabatabaee Bafroee[1*], Mohammad Hasan Shahhosseini[2]

1. Department of Biology, East Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Department of Microbiology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract:

Aim and Background: *Cytomegalovirus* (CMV) is a member of the herpesviridae family, which is a major cause of intrauterine viral infection. The aim of this study was to evaluate the diagnosis of CMV in women with idiopathic abortions by the polymerase chain reaction (PCR) technique.

Materials and Methods: 50 blood samples of women with idiopathic abortions were collected and viral genome was extracted using commercial kit DNG-Plus. The PCR technique was optimized using the standard CMV strain genome and then the Limit of Detection (LOD) and specificity of the test was evaluated using genomes other than CMV. The optimized PCR technique was performed on the samples and positive and negative controls and the results were analyzed by gel electrophoresis.

Results: using optimized PCR technique, 257bp product were observed in agarose gel. In the specificity test, positive results were obtained only with the CMV genome and a detection limit of 100 copies per reaction was obtained. Finally, out of 50 samples, two samples were positive for CMV.

Conclusion: Idiopathic abortions are abortions that do not seem to have a specific cause. But obviously many factors including infectious agents that can cause abortion are difficult to identify them. One of these factors could be CMV and the results of this study showed that it is best to search and identify CMV in this type of abortion by molecular tests such as PCR, quickly.

Keywords: *Cytomegalovirus*, Idiopathic abortion, polymerase chain reaction , Iau Science

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.4.3]

Corresponding author:
Department of Biology, East Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
Email: akram_tabatabaee@yahoo.com

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۲ - شماره۴۵ - زمستان ۱۴۰۰
NCMBJ
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) برای تشخیص سریع *سیتومگالوویروس* در سقط‌های ایدیوپاتیک

پریا آقایی[۱]، اکرم سادات طباطبایی بفرویی*[۱]، محمد حسن شاه حسینی[۲]

۱. گروه زیست‌شناسی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. گروه میکروبیولوژی، واحد شهرقدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *سایتومگالوویروس* (CMV) انسانی از اعضای خانواده هرپس ویروس‌ها است که از علل اصلی عفونت ویروسی داخل رحمی است. هدف این مطالعه بررسی تشخیص CMV در زنان با سقط‌های ایدیوپاتیک توسط تکنیک واکنش زنجیره پلی-مراز (PCR) است.

مواد و روش‌ها: ۵۰ نمونه خون از زنان مبتلا به سقط‌های ایدیوپاتیک جمع‌آوری و توسط کیت تجاری DNG-Plus ژنوم ویروسی استخراج گردید. تکنیک PCR با استفاده از ژنوم سویه استاندارد CMV بهینه سازی شد و سپس تعیین حد تشخیص (LOD) و اختصاصیت آزمایش با استفاده از ژنوم‌های غیر از CMV مورد ارزیابی قرار گرفت. تکنیک PCR بهینه شده بر روی نمونه‌ها و کنترل‌های مثبت و منفی انجام شد و نتایج توسط روش الکتروفورز ژل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: با استفاده از تکنیک PCR بهینه شده، محصول ۲۵۷ جفت بازی در ژل آگاروز مشاهده گردید. در آزمون تعیین اختصاصیت، نتایج مثبت فقط با ژنوم CMV حاصل شد و همین‌طور حد تشخیص ۱۰۰کپی در هر واکنش به‌دست آمد. در نهایت، از ۵۰ نمونه مورد بررسی، دو نمونه از نظر وجود CMV مثبت گردید.

نتیجه‌گیری: سقط‌های ایدیوپاتیک، سقط‌هایی هستند که به‌ظاهر عامل مشخص ندارند. اما به‌طور مشخص عوامل متعددی از جمله عوامل عفونی که شناسایی آن‌ها مشکل است می‌توانند موجب سقط جنین گردند. یکی از این عوامل می‌تواند CMV باشد و نتایج این مطالعه مشخص کرد که بهتر است در این نوع سقط‌ها توسط آزمون‌های مولکولی مانند PCR به‌سرعت، CMV را جستجو و شناسایی نمود.

واژه‌های کلیدی: *سایتومگالوویروس*، سقط ایدیوپاتیک، واکنش زنجیره پلی‌مراز، Iau Science

مقدمه

خروج جنین از رحم قبل از رسیدن به مرحله تولد (در انسان‌ها، به‌طور معمول در حدود هفته بیستم بارداری) را سقط جنین می‌گویند. چنان‌چه دلیل سقط جنین ایجاد شده مشخص نباشد، آن را سقط ایدیوپاتیک یا خود به-خودی می‌نامند. بنابراین، سقط با منشاء نامعلوم با نام سقط ایدیوپاتیک شناسایی می‌شود. یکی از علل سقط، عفونت‌ها هستند که در سقط خود به‌خودی اهمیت بیش‌تری پیدا می‌کنند. ویروس *سایتومگالوویروس* انسانی مهم‌ترین عامل و ایجاد کننده طیف وسیعی از عفونت‌های ویروسی شایع در بزرگسالان است که این عفونت‌ها به‌طور معمول بدون علامت بالینی یا همراه با علائم غیراختصاصی هستند. با این وجود هنگامی که زن باردار برای اولین بار با ویروس مواجه می‌شود، علاوه‌بر احتمال فعال شدن دوباره ویروس، خطر انتقال ویروس به جنین نیز در موارد نادر وجود دارد. پیشتر

نویسنده مسئول:
گروه زیست‌شناسی، واحد تهران‌شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
پست الکترونیکی: akram_tabatabaee@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۰۸

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.4.3]

حضور آنتی‌بادی ویروس *سایتومگالوویروس* انسانی را در موارد ناهنجاری‌های جنینی و سقط‌های جنینی گزارش کرده‌اند و مطالعه‌های متعددی در مورد ارتباط این ویروس با موارد اختلال‌ها و سقط در مناطق مختلف ایران و جهان صورت گرفته است (۱). ویروس *سایتومگال* انسانی (HCMV) مثل تمام *هرپس* ویروس‌ها در میزبان عفونت مجدد ایجاد می‌کند. تنها سلول‌هایی که به‌طورکامل برای همانند سازی HCMV در موجود زنده مجازند، فیبروبلاست‌ها هستند (۲). HCMV یک ویروس پارادوکس است که می‌تواند به‌صورت بالقوه کشنده یا در تمام طول عمر همراه خاموش فرد باشد. نحوه عملکرد این ویروس به‌صورتی است که، تعداد بسیار کمی از ویروس‌ها از سلول آلوده رها می‌شوند و انتقال عفونت به‌طور عمده از طریق سلول به سلول انجام می‌گیرد. ممکن است چندین هفته وقت لازم باشد تا یک لایه سلول به‌طور کامل آلوده شود. *سایتومگالوویروس*‌ها، اثر سیتوپاتیک ایجاد می‌کنند. هم‌چنین، علاوه‌بر اینکلوژن‌های داخل هسته‌ای در این بیماری اینکلوژن‌های داخل سیتوپلاسمی اطراف هسته‌ای نیز ایجاد می‌شوند. سلول‌های چند هسته‌ای نیز مشاهده شده و تعداد زیادی از سلول‌های آلوده شده به شدت بزرگ می‌شوند (۳).

به‌دلیل شیوع بالای عفونت‌های مادرزادی با این ویروس، یک مشکل بزرگ بهداشت جهانی به‌شمار می‌رود. عفونت غیر آشکار در طی دوران کودکی و بلوغ شایع است. عفونت‌های شدید *سایتومگالوویروس* به‌طور غالب در بالغین دچار اختلال ایمنی، دیده می‌شود، مثل افراد با ضعف ایمنی، افراد دارای پیوند عضو به‌خصوص پیوند کلیه، افراد مبتلا به ایدز و هم‌چنین افراد مبتلا به تومورهای بدخیم که شیمی درمانی شده‌اند. شایع‌ترین علت عفونت مادرزادی، انتقال ویروس فعال شده در رحم است، هم‌چنین در جریان عبور جنین از کانال زایمان نیز عفونت ایجاد می‌گردد. عفونت مادرزادی ممکن است باعث مرگ جنین در رحم شود (۴). *سایتومگالوویروس* یکی از مهم‌ترین عوامل سقط جنین مربوط به عفونت و به‌طور طبیعی پیامدهای ناخوشایند بعدی آن به‌ویژه در نوزادان است که سبب ایجاد ناهنجاری‌های اجتماعی-فردی در خانواده می‌گردد. در ایران نقش ویروس *سایتومگالوویروس* در سقط جنین مادران از نظر اپیدمیولوژیکی، به طور جامع ارزیابی نشده است (۵). لذا با توجه به اهمیت ویروس و تشخیص عفونت، هدف مطالعه حاضر، شناخت مولکولی CMV به‌روش PCR که دارای حساسیت بسیار بالا و در عین حال روشی آسان و سریع‌تر نسبت‌به کشت است، می‌باشد که برای تشخیص و پیشگیری از عفونت‌های *سایتومگالوویروس* در نمونه بارداری‌هایی که منجر به سقط‌های خود به‌خودی شده‌اند، انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

۵۰ نمونه سرم خون از زنان با سقط‌های ایدیوپاتیک با دلیل نامشخص و ۵۰ نمونه از زنان سالم که همگی دارای رنج سنی ۲۱ تا ۴۳ سال بودند، از بیمارستانی در شهر تهران در سال ۲۰۱۹ تحت شرایط استریل جمع‌آوری شد و نمونه‌ها جهت استخراج ژنوم ویروسی به آزمایشگاه تخصصی ویروس شناسی کیوان منتقل شدند. سایر آزمایش‌ها در محل اصلی انجام تحقیق، آزمایشگاه تحقیقاتی ایرانیان ژن فناور، انجام شد.

استخراج DNA از نمونه با تیتر مشخص ویروس CMV

به‌منظور بهینه نمودن تکنیک PCR جهت تشخیص ویروس CMV در نمونه بیماران، ابتدا سرم با تیتر مشخص CMV از آزمایشگاه ویروس‌شناسی کیوان تهیه شد. لازم‌به ذکر است، تعداد پارتیکل‌های ویروس در سرم با استفاده از دستگاه COBAS PCR و کیت COBAS Amplicon kit (شرکت هیتاچی ژاپن) در آزمایشگاه مذکور مشخص گردید. DNA های ویروسی با استفاده از کیت DNG-Plus سیناکلون (cat: DN8117C) استخراج گردید و کیفیت و کمیت آن‌ها با استفاده از دستگاه نانودراپ بررسی شد. نمونه‌های DNA با نسبت ۲۸۰/۲۶۰ نانومتر، بالای ۱/۷ و نسبت ۲۳۰/۲۶۰ نانومتر، به‌مقدار ۲/۲ دارای خلوص قابل قبول از نظر کیفیت DNA هستند.

مراحل بهینه‌سازی واکنش زنجیره پلی‌مراز (PCR) جهت تشخیص *سایتومگالوویروس*

تکنیک PCR

جدول۱، توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده جهت تکثیر ناحیه ۲۵۷ جفت بازی ژن هدف، گلیکوپروتئین B، جهت بهینه‌سازی فرآیند تشخیص *سایتومگالوویروس* در نمونه‌های سرم را نمایش می‌دهد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.4.3]

به‌منظور بهینه کردن پروفایل حرارتی، میانگین دماهای ذوب پرایمرها (C °۶۵) محاسبه شد. سپس مخلوط PCR در بازه دمایی C ° ۵ ± ۶۵، با استفاده از دستگاه ترموسایکلر تحت تکنیک PCR به روش گرادیانت قرار گرفتند تا بهترین دما برای اتصال پرایمرها به‌دست آید.

جدول۱ . توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده در تشخیص *سایتومگالوویروس*

نام ژن	توالی پرایمر	سایز محصول	منبع
گلیکوپروتئین B	Forward 5'-CGG TGG AGA TAC TGC TGA GGT- 3' Reverse 5'- CAA GGT GCG TGA TAT GAA C- 3'	۲۵۷bp	۵

تعیین اختصاصیت تکنیک PCR جهت تشخیص *سیتومگالوویروس*

جهت تعیین اختصاصیت (آزمون ویژگی) پرایمرهای *سیتومگالوویروس* و تکنیک PCR بهینه شده، ژنوم‌های غیر از سایتومگالوویروس (از جمله، ژنوم انسان، موش، ویروس هرپس سیمپلکس I و II، آدنوویروس و ژنوم *ساکارومیسس سروزیه*) از بانک ژنتیکی آزمایشگاه تحقیقاتی ایرانیان ژن فناور تهیه شد و با روش PCR بررسی شدند. هم‌چنین سکانس پرایمرها در سایت NCBI وارد شد و پرایمرها را از لحاظ همولوژی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

تعیین حد LOD آزمون PCR بهینه شده

به‌جهت تعیین حساسیت تست PCR بهینه شده، ابتدا غلظت یا جذب نوری (OD) کنترل مثبت با استفاده از دستگاه نانودراپ اندازه‌گیری شد و سپس با استفاده از فرمول (Genome copy number)GCN، تعداد DNA در هر میکرولیتر از سوسپانسیون DNA اولیه محاسبه گردید. به‌منظور شناسایی حداقل میزان DNA ویروس، به‌روش کخ، رقت‌های متوالی از سوسپانسیون DNA *سیتومگالوویروس* تهیه گردید. در نهایت تکنیک PCR برای هریک از رقت‌ها همراه با کنترل مثبت و کنترل منفی انجام شد (۶).

نتایج

نتایج بهینه‌سازی تکنیک PCR جهت تشخیص سایتومگالوویروس

پس از بهینه‌سازی واکنشگرهای PCR، مقادیر و غلظت‌های بهینه شده مطابق جدول ۲ به‌دست آمد. هم‌چنین جدول ۴ برنامه زمانی و دمایی تکنیک PCR را پس از بهینه‌سازی پروفایل حرارتی نمایش می‌دهد. تصویر محصول PCR با سایز bp ۲۵۷ روی ژل آگارز۱/۵٪ در شکل ۱نشان داده شده است.

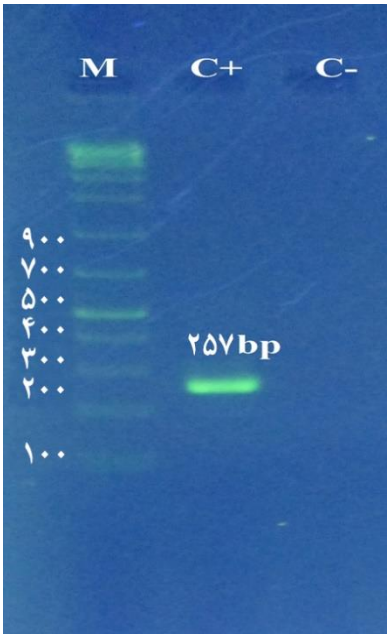
شکل ۲، اختصاصیت تکنیک PCR بهینه‌سازی شده در این تحقیق جهت تشخیص *سایتومگالوویروس* را نمایش می‌دهد. با توجه‌به شکل، پرایمرها به‌طور کامل اختصاصی فقط با DNA *سیتومگالوویروس* باند شده‌اند و با DNA غیر *سایتومگالوویروس* هیچ باند یا محصول ناخواسته‌ای ایجاد نکرده‌اند که نشان‌دهنده اختصاصیت بسیار بالای پرایمرها است.

جدول۲. غلظت‌ها و حجم‌های بهینه شده واکنشگرهای PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر

مواد	غلظت (حجم)	غلظت نهایی در واکنش
کلرید منیزیوم ($MgCl_2$)	۵۰ mM (۰/۷۵ µl)	-
دئوکسی نوکلئوتید (dNTPs)	۱۰ mM (۰/۵ µl)	۰/۲mM
پرایمر فوروارد	۱۰ µM (۰/۵ µl)	۰/۲ µM
پرایمر ریورس	۱۰ µM (۰/۵ µl)	۰/۲ µM
Taq DNA پلیمراز	۵U/µl(۰/۳ µl)	۱/ ۵ U
بافر 10 X PCP	۱ X (۲/۵ µl)	-
رشته DNA الگو	۵ ng -۱ (۵µl)	-
آب مقطر دیونیزه	۱۵µl	-

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.4.3]



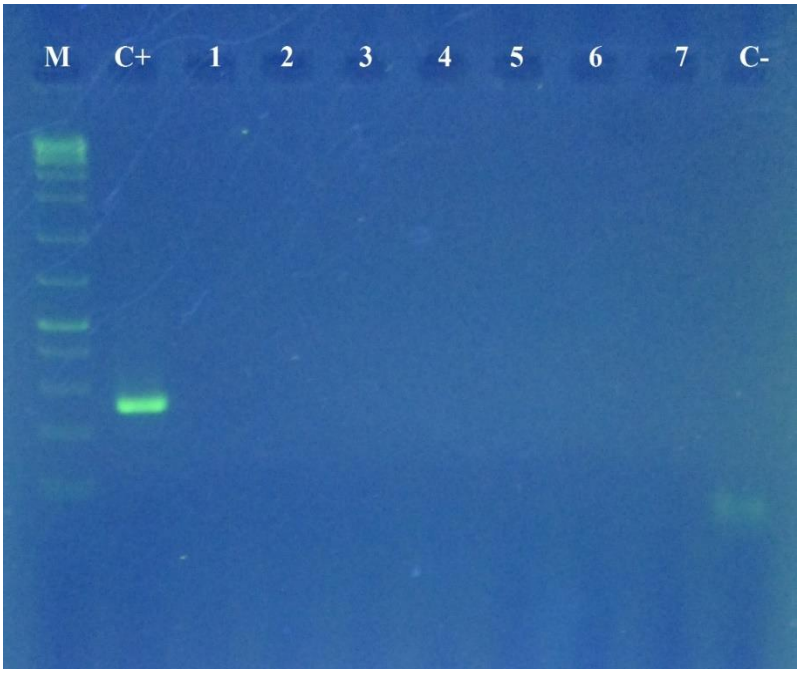
شکل۱- تکنیک PCR بهینه شده برای تشخیص *سایتومگالوویروس*

M: سایز مارکر ۱ kb (bioflux)

C+: کنترل مثبت (۲۵۷ bp)

C-: کنترل منفی

نتایج تعیین اختصاصیت پرایمرها و تکنیک PCR جهت تشخیص *سایتومگالوویروس*



شکل ۲. تکنیک PCR جهت تشخیص اختصاصی *سایتومگالوویروس*

M: سایز مارکر ۱ kb (bioflux)، C+: کنترل مثبت محصول PCR با اندازه محصول ۲۵۷ جفت بازی مربوط به *سایتومگالوویروس*، ۱: DNA ی انسان، ۲: DNA ی موش۳: DNA ی هرپس سیمپلکس ویروس ۴، ۱: DNA ی هرپس سیمپلکس ویروس ۲، ۵: DNA ی ویروس هپاتیت B، ۶: DNA ی آدنوویروس،۷ : DNA ی *ساکارومایسیس سرویزیه*، C- : کنترل منفی

حد تشخیص(LOD) تکنیک PCR بهینه شده

شکل ۳ نتایج این بررسی را نشان می‌دهد. حساسیت این تست ۱۰۰ copy/Reaction به‌دست آمد.

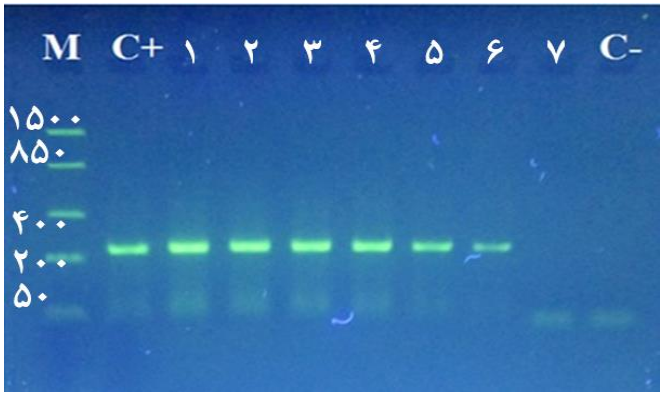
نتایج تکنیک PCR بهینه شده بر روی نمونه‌ها

از میان ۵۰ نمونه سرم خون، ۲ نمونه (۴/۵ ٪) آلوده به *سایتومگالوویروس* بود. شکل۴(A-C) نتایج تکنیک PCR

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

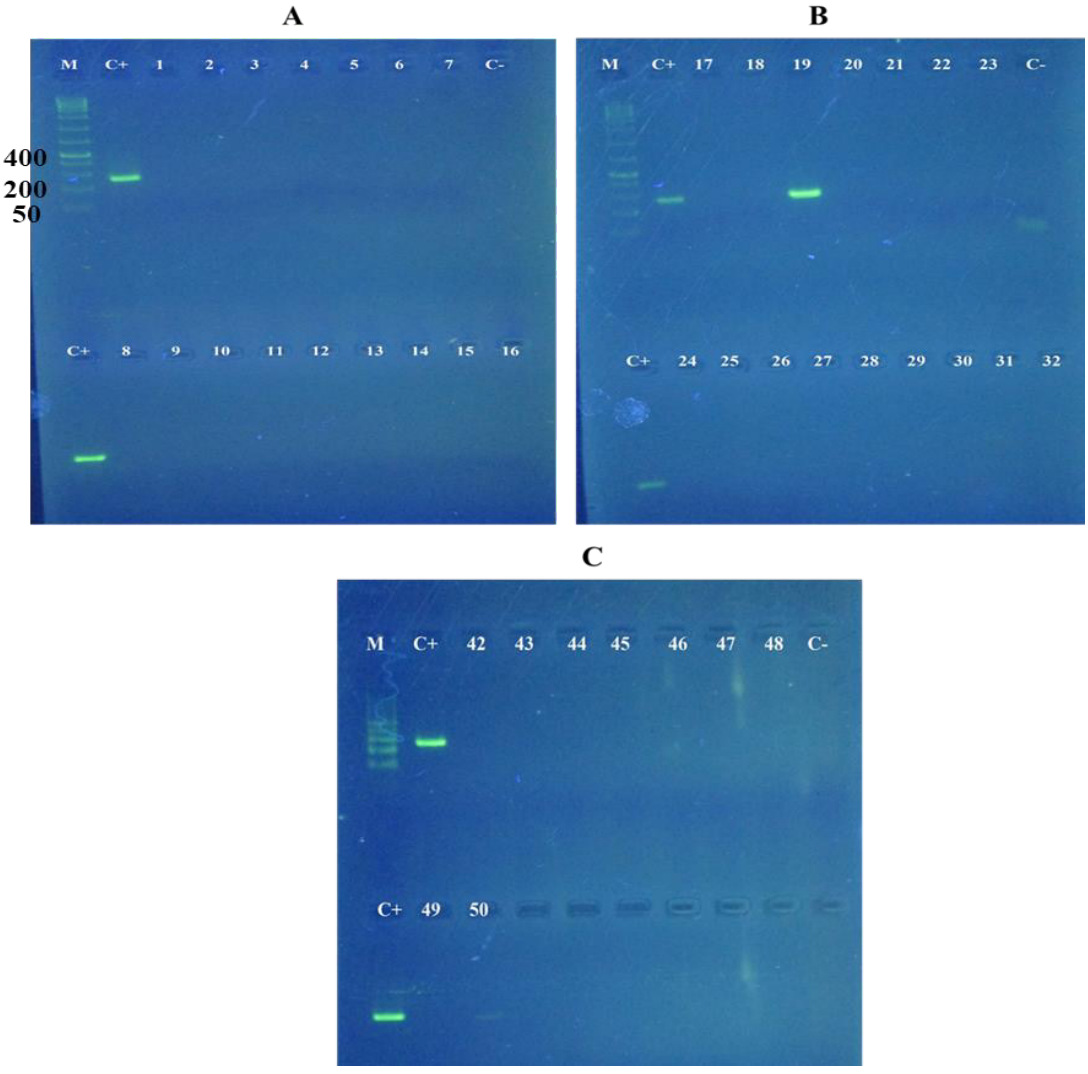
[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.4.3]

بهینه شده را روی نمونه‌ها جهت تشخیص سایتومکالوویروس را نمایش می‌دهد.



شکل ۳. حد تشخیص(LOD) تکنیک PCR بهینه شده

M: سایز مارکر (bioflux) kb ۱، +C: کنترل مثبت محصول PCR با اندازه محصول ۲۵۷ جفت بازی مربوط به *سایتومگالوویروس*، ۱: ۱۰copy/reaction ،۰۰۰،۰۰۰ ۲: /copy ،۱۰۰۰،۰۰۰ ۳: copy/reaction ،۱۰۰،۰۰۰ ۴: copy/reaction ،۱۰،۰۰۰ ۵: copy/reaction ۱۰۰۰، ۶: ۷،۱۰۰copy/reaction: ۱۰copy/reaction ،-C : کنترل منفی



شکل۴(A-C)- نتایج تکنیک PCR بهینه شده بر روی نمونه ها جهت تشخیص *سایتومگالوویروس*

M: سایز مارکر (bioflux) 100 bp ، +C: کنترل مثبت محصول PCRبا اندازه محصول ۲۵۷ جفت بازی مربوط به *سایتومگالوویروس*، -C: کنترل منفی ، ۱۹: نمونه مثبت از نظر *سایتومگالوویروس*، و ۱۸-۱، ۵۰-۲۰: نمونه های منفی از نظر *سایتومگالوویروس*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.4.3]

بحث

سایتومگالوویروس انسانی (*HCMV*) عضو اصلی زیر خانواده *β*- هرپس ویروس مربوط به خانواده هرپس ویریده، جنس *سایتومگالوویروس*، گونه هرپس ویروس انسانی ۵ (*HHV-5*) است. *سایتومگالوویروس* (*CMV*) به‌عنوان یک ویروس فرصت‌طلب، می‌تواند در افراد با سیستم ایمنی پایین و یا سیستم ایمنی سرکوب شده، تأثیر منفی بگذارد (۷،۸). علی‌رغم وجود داروهای ضد ویروسی مناسب (گان سیکلووير، فوسکارنت) عفونت *CMV* هنوز به‌عنوان یک عامل مهم ایجاد بیماری و مرگ و میر در بیماران پیوندی است، که اغلب علت آن تأخیر در تشخیص و درمان مناسب است (۹). هم‌چنین مطالعه‌های مختلفی نشان داده است که، عفونت *CMV*یکی از دلایل عمده سقط جنین، نا هنجاری‌های مادرزادی و کاهش شنوایی در نوزادان است که به‌طور طبیعی منجر به زیان اقتصادی و روانی در جامعه و خانواده فرد بیمار می‌شود (۱۰). به‌طور کلی، *CMV* پس از یک دوره عفونت فعال در شکل نهفته باقی می‌ماند. این ویروس می‌تواند در یک فرصت مناسب مانند حاملگی، دوباره فعال شود و جنین نیز از طریق مادر، عفونت *CMV* را دریافت کند. عفونت اولیه *CMV* در ۴ تا ۷ درصد از کل موارد بارداری اتفاق می‌افتد و انتقال عفونت از مادر به جنین در حدود ۷۵-۲۴ ٪ است که به‌طور میانگین ۴۰ ٪ در نظر گرفته می‌شود، اما فقط ۱۰ ٪ از این موارد، علائم عفونت *CMV* مادرزادی را هنگام تولد از خود نشان می‌دهند و ۹۰٪ بقیه موارد بدون علائم بالینی هستند (۱۱). البته نکته قابل توجه در این است که از این ۹۰٪، در حدود ۱۵-۵ درصد، علائم و عوارض بلند مدت نشان می‌دهند (۱۲). با توجه‌به عواقب وخیم عفونت *CMV* دوران بارداری برای جنین، غربالگری آن در دوران بارداری می‌تواند مفید باشد. چون با غربالگری می‌توان عفونت احتمالی جنین را جست و جو نمود و در صورت مثبت بودن، با خاتمه انتخابی حاملگی، جلوی تولد یک نوزاد دارای نقایص جسمانی و روانی را گرفت. بنابراین، در مطالعه حاضر به ارزیابی مولکولی *CMV* در سقط‌های ایدیوپاتیک به‌روش PCR پرداخته شد و این نتیجه حاصل شد که با تکنیک‌هایی مانند PCR به‌سرعت می‌توان، *CMV* را شناسایی کرد و با توجه‌به مطالعه‌های پیشین نیز این موضوع تأیید می‌شود.

بر اساس نتایج مطالعه‌های مختلف، روش‌های متداول شناسایی عفونت *CMV* شامل: کشت ویروس (استاندارد طلایی تشخیص)، تست سنجش آنتی‌بادی (الایزا) و روش مولکولی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) است. کشت *CMV* باید ۲۱ روز نگهداری شود تا نتیجه مثبت ایجاد شود. این زمان برای بیماران پیوندی مناسب نیست. تکنیک‌های آزمایشگاهی که بر اساس تشخیص سرولوژیکی هستند، (تشکیل آنتی‌بادی خاص) برای بیماران ضعیف به‌لحاظ سیستم ایمنی نامناسب هستند، زیرا این افراد نمی‌توانند آنتی‌بادی نرمال بسازند. بنابراین آزمایش‌هایی که برای تشخیص *CMV* در بیماران ضعیف به حاظ سیستم ایمنی استفاده می‌شود، باید در جهت تشخیص مستقیم ویروس، آنتی‌ژن‌های پروتئینی یا اسیدنوکلئیک باشد تا عفونت مشخص شود (۱۳). تشخیص به روش آمنیوسنتز گرچه ویژگی بالایی دارد ولی یک روش تهاجمی است که خودش خطر سقط را افزایش می‌دهد. امروزه در کشورهای پیشرفته، به‌خصوص در بیماران دارای نقص سیستم ایمنی، روش تشخیصی PCR در حال جایگزینی با روش کشت سلول خونی است. روشPCR حساسیت بالایی جهت شناسایی ویروس در نمونه‌های ادرار، خون، پلاسما و مایع مغز- نخاعی دارد که انجام کشت، به‌دلیل زمان‌بر بودن مقدور نیست. PCR محتوای نمونه‌های کلینیکی را در یک روش غیر وابسته به کشت و در مدت زمان کوتاه و هم‌چنین با دقت، اختصاصیت و حساسیت بسیار بالا بررسی می‌کند که به میزان قابل توجهی باعث افزایش کیفیت اطلاعات به‌دست آمده از این نمونه‌ها می‌شود (۱۳). هم‌چنین، مطالعه‌های انجام شده حاکی از آن است که، نتایج مثبت با روش PCR به‌خوبی وجود ویروس سایتومگال را نشان می‌دهد (۹). در پژوهش حاضر نیز برای شناسایی DNA *ویروس CMV* از تکنیک PCR استفاده شد و مشخص شد که تکنیک PCR بهینه شده از اختصاصیت بسیار بالایی برخوردار است، به طوری‌که فقط با DNA *ویروس CMV* واکنش نشان داد و با DNA سایر موجودات زنده مورد مطالعه هیچ واکنشی صورت نگرفت. طبق مطالعه مقایسه‌ای که در سال ۲۰۱۷ بر روی نمونه سرم ۱۶۵ زن با سقط خود به‌خودی با عامل *CMV* به‌وسیله سه روش تشخیصی PCR، الایزا و ایمونواسی کروماتوگرافیک انجام گرفت، با تشخیص ۹۶٪ مثبت با PCR از نظر حضور *CMV* در نمونه‌ها، هم‌چنان روش تشخیصی PCR با اختلاف از سایر روش‌ها از نظر دقت حائزاهمیت بود (۱۴). متراکم شدن ویروس‌ها در جنین که به بیماری شدید منجرمی شود در هفته‌های ۱۲ تا ۱۶ بارداری رخ می‌دهد (۱۵) و قبل از آن ردیابی وجود DNA

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.4.3]

در خون مادر می‌تواند جایگزین آمنیوسنتز شود (۱۶). در مطالعه‌ای ۱۰۰ نمونه ادرار نوزادان زیر سه هفته مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج بررسی با توجه‌به متغیرهای سن بر حسب روز، جنس، علائم بالینی مختلف در نوزادان تازه متولد شده و دو روش متفاوت Real Time و PCR ارزیابی شدند. نتایج حاصل از انجام PCR به روش الکتروفورزیس برای *CMV* بر روی ۱۰۰ نمونه ادرار نوزادان، ۵۸ نوزاد مثبت (۵۸ ٪) و ۴۳ نوزاد منفی (۴۳٪) را نشان دادند. تمامی ۱۰۰ نمونه با تکنیک Real Time مورد ارزیابی قرار گرفتند که نتایج آن، نتایج PCR معمولی را تأیید کردند (۱۷). در برخی موارد، تشخیص قطعی عفونت‌های *CMV* براساس جداسازی ویروس است، اما در بسیاری از موارد به‌ویژه در تست‌های غربالگری، امکان کشت دادن ویروس (به‌علت گران بودن و وقت گیربودن) نیست (۱۸)، لذا وجود روش مولکولی در تشخیص این بیماری به‌عنوان تست سریع و صحیح بسیار حائز اهمیت است (۱۹).

Patrick Doof و همکاران جهت تأیید وجود یا عدم وجود عفونت *CMV* از روش PCR استفاده کردند. در آن مطالعه تعداد ۱۵۷ زن باردار به‌عنوان مبتلایان به عفونت اولیه *CMV* شناخته شدند. از این تعداد ۱۴۸ مورد بدون علامت بالینی و ۸ مورد دارای علائم بالینی بودند. در یک مورد هم وجود ناهنجاری‌های مادرزادی جنین مربوط به عفونت *CMV* در نظر گرفته شد. در مطالعه‌ای توسط Zaker و همکاران بر روی نمونه‌های مایع آمنیوتیک از ۶۰ زن باردار با سابقه سقط مشخص شد که نتایج PCR برای ۵ (۲۷/۸٪) نفر با یکبار سابقه سقط و ۴ (۸۰/۰ ٪) نفر با دوبار سابقه سقط مثبت بوده است. در گروه کنترل نتایج PCR منفی گزارش شد (۱۹). در مطالعه حاضر نیز، نتایج PCR برای ۲٪ از ۵۰ نمونه مورد بررسی مثبت شد و حد تشخیص ۱۰۰ copy/reaction به‌دست آمد. هم‌چنین، نتایج حاصل از تحقیق Kazemi و همکاران بر روی ۱۱۰ نمونه سرم خون از مادران با سابقه‌ی سقط خود به خودی مبنی بر مثبت شدن تست PCR برای ۶ مورد (۵/۶٪) بوده است که به نتایج این تحقیق نزدیک است. آن‌ها از سه روش PCR، کشت و الایزا برای تشخیص عفونت *CMV* استفاده کردند. با توجه‌به نتایج، دقت تست PCR از بقیه روش‌ها بیش‌تر گزارش شد و ثابت کردند تست الایزا برای تشخیص عفونت*CMV* کارایی چشم‌گیری ندارد زیرا، تست الایزا، در دو هفته اول بروز علائم بیماری منفی است، چون آنتی‌بادی سرمی آنقدر افزایش پیدا نکرده است که بتواند تست الایزا را مثبت کند که این امر از جنبه‌های منفی یا ضعیف الایزا بشمار می‌رود (۴).

ارزیابی نتایج محققان نشان داد که اهمیت تشخیص سریع و به‌موقع در مورد عفونت‌های مرتبط با *CMV* از اهمیت بالایی برخوردار است و مقایسه روش‌های مختلف در تشخیص وجود این عامل در بدن این موضوع را روشن می‌نماید که به‌احتمال روش تشخیص مولکولی در زمان و دقت شناسایی عامل مهمی در بهره برداری این روش است (۱۹). هم‌چنین روش‌های ایمونولوژی که امروزه صورت می‌گیرد، با توجه‌به خطای دستگاه و کارشناسان مرتبط و هم‌چنین زمان انجام آن معضلاتی را در گزارش‌های صحیح و سریع در بر دارد که روش مولکولی، جایگزین مناسبی در تشخیص است. هم‌چنین با توجه‌به نتایج محققان دیگر کشورها این موضوع نمایان می‌شود که ویروس *CMV* امکان واردکردن ضربه به خانواده و مادران با سقط‌های خود به‌خودی و مکرر، تولد نوزاد با ناهنجاری‌های شناخته شده و ضایعات جبران ناپذیر در نوزاد را دارد. بنابراین، به‌طوری ضروری در این نوع سقط‌ها می‌توان به‌وسیله تکنیک‌هایی مانند PCR به‌سرعت، *CMV* را جستجو و شناسایی نمود.

نتیجه‌گیری

تشخیص سریع و به موقع در مورد عفونت‌های مرتبط با *CMV* از اهمیت بالایی برخوردار است چون با غربالگری می‌توان عفونت احتمالی جنین را جست و جو نمود و در صورت مثبت بودن، با خاتمه انتخابی حاملگی، جلوی تولد یک نوزاد دارای نقایص جسمانی و روانی را گرفت.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.4.3]

منابع

1. Neirukh T, Qaisi A, Saleh N, Rmaileh AA, Zahriyeh EA, Qurei L, Dajani F, Nusseibeh T, Khamash H, Baraghithi S, Azzeh M. Seroprevalence of Cytomegalovirus among pregnant women and hospitalized children in Palestine. BMC infectious diseases. 2013 Dec;13(1):1-7.

2. Lilleri D, Kabanova A, Lanzavecchia A, Gerna G. Antibodies against neutralization epitopes of human cytomegalovirus gH/gL/pUL128-130-131 complex and virus spreading may correlate with virus control in vivo. Journal of clinical immunology. 2012 Dec 1;32(6):1324-31.

3. Mercer DK, Stewart CS, Miller L, Robertson J, Duncan VM, O'Neil DA. Improved methods for assessing therapeutic potential of antifungal agents against dermatophytes and their application in the development of NP213, a novel onychomycosis therapy candidate. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2019 Apr 25;63(5):e02117-18.

4. Mercer DK, Stewart CS, Miller L, Robertson J, Duncan VM, O'Neil DA. Improved methods for assessing therapeutic potential of antifungal agents against dermatophytes and their application in the development of NP213, a novel onychomycosis therapy candidate. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2019 Apr 25;63(5):e02117-18.

5. Kazemi A, Norouzi H, Nazarpour S. Comparison the Diagnostic Value of Culture and Polymerase Chain Reaction Methods in Diagnosis of Cytomegalovirus Infections in Spontaneous Abortions. The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility. 2013;16(53):1-6.

6. Kaandorp SP, Goddijn M, Van Der Post JA, Hutten BA, Verhoeve HR, Hamulyák K, Mol BW, Folkeringa N, Nahuis M, Papatsonis DN, Büller HR. Aspirin plus heparin or aspirin alone in women with recurrent miscarriage. New England Journal of Medicine. 2010 Apr 29;362(17):1586-96.

7. Bieniek R, Kirby JE, Cheng A, Eichelberger K, Qian Q. Effective use of PCR for the detection of cytomegalovirus viremia and monitoring therapy in immunocompromised patients. Laboratory Medicine. 2011 Jun 1;42(6):339-43.

8. Wang Y, Li S, Ma N, Zhang Q, Wang H, Cui J, Wang S. The association of ToRCH infection and congenital malformations: A prospective study in China. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. 2019 Sep 1;240:336-40.

9. Goudarzi E, Yousefi JV, Harzandi N. Survey of polymerase chain reaction efficiency in the detection of mycoplasma, Listeria and Brucella in culture negative samples obtained from women with abortion. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2013 Oct 10;23(105):61-9.

10. Requião-Moura LR, Matos AC, Pacheco-Silva A. Cytomegalovirus infection in renal transplantation: clinical aspects, management and the perspectives. Einstein (Sao Paulo). 2015 Jan;13:142-8.

11. Ssentongo P, Hehnly C, Birungi P, Roach MA, Spady J, Fronterre C, Wang M, Murray-Kolb LE, Al-Shaar L, Chinchilli VM, Broach JR. Congenital Cytomegalovirus Infection Burden and Epidemiologic Risk Factors in Countries With Universal Screening: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA network open. 2021 Aug 2;4(8):e2120736.

12. Gao YL, Gao Z, He M, Liao P. Infection status of human parvovirus B19, cytomegalovirus and herpes simplex Virus-1/2 in women with first-trimester spontaneous abortions in Chongqing, China. Virology journal. 2018 Dec;15(1):1-8.

13. Szkaradkiewicz A, Pieta P, Tułecka T, Breborowicz G, Słomko Z, Strzyzowski P. The diagnostic value of anti-CMV and anti-HPV-B19 antiviral antibodies in studies on causes of recurrent abortions. Ginekologia polska. 1997;68(4):181-6.

14. Gerna G, Baldanti F. Brief molecular diagnostic criteria for human cytomegalovirus infection/disease. Expert review of molecular diagnostics. 2019 Sep 2; 19(9):773-5.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.4.3]

15. Ahmed R. Sofy , Khalid A. El-Dougdoug , Adel A. Mousa , Mahmoud R. Sofy , Ahmed A. Hmed , Ahmed A. Abbas , Monitoring and Evaluation of Cytomegalovirus Detection and Risk Factors in Pregnant Women from Egypt, *International Journal of Virology and Molecular Biology*. 2017 Dec; 6 (1): 9-23.

16. Adler SP. Screening for cytomegalovirus during pregnancy. Infectious diseases in obstetrics and gynecology. 2011 Aug 9; 2011.

17. Marsico C, Kimberlin DW. Congenital Cytomegalovirus infection: advances and challenges in diagnosis, prevention and treatment. Italian journal of pediatrics. 2017 Dec;43(1):1-8.

18. YARI R, Javadi A, MOROVVATI A, SEYEDSHAKERI T. Rapid Detection and Prevalence of Cytomegalovirus in Infants under Three Weeks by PCR and Real Time PCR. 2016.

19. Benoist G, Leruez-Ville M, Magny JF, Jacquemard F, Salomon LJ, Ville Y. Management of pregnancies with confirmed cytomegalovirus fetal infection. Fetal diagnosis and therapy. 2013;33(4):203-14.

20. Nigro G, Mazzocco M, Mattia E, Di Renzo GC, Carta G, Anceschi MM. Role of the infections in recurrent spontaneous abortion. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine. 2011 Aug 1;24(8):983-9.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.4.3]