[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-10-12]

مجله علوم پزشکی مدرس
دوره ۱۱، شماره ۳ و ٤: از ۵۷-۶۳
پاییز و زمستان ۱۳۸۷

راه‌اندازی آزمایش الایزا برای تعیین عیار آنتی‌بادی ضد ویروس هرپس سیمپلکس نوع یک و مقایسه نتایج با روش خنثی‌سازی ویروس

کبرا رضوی‌پاشابیگ[۱]، حوریه سلیمان‌جاهی[۲*]، یاشار محمدزاده‌صدیق[۱]، محمدحسن روستایی[۳]

۱- کارشناس ارشد، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲- دانشیار، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳- استاد، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

دریافت مقاله: ۸۷/۹/۲۰ پذیرش مقاله: ۸۷/۱۲/۲۱

چکیده

هدف: ویروس‌های هرپس سیمپلکس، عامل عفونت‌های انسانی مسئول تولید عفونت‌های ماندگار و نهفته، در سراسر جهان محسوب می‌شوند. عفونت‌های ویروس هرپس سیمپلکس اغلب به‌صورت مستمر در جمعیت نرمال عود مکرر دارند اما در افراد با نقص سیستم ایمنی مشکلاتی را ایجاد می‌کند.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق ابتدا ویروس‌های هرپس سیمپلکس درسلول‌های BK تکثیر یافت و عیار آنتی‌بادی‌ها علیه ویروس هرپس سیمپلکس در ۵۰۲ نمونه جمع‌آوری شده با آزمون خنثی‌سازی ویروس به‌عنوان استاندارد طلایی و الایزای طراحی شده تعیین شد.

نتایج: براساس نتایج به‌دست آمده به‌ترتیب ۸۰/٤۸ و ۸۱/٦۷ درصد عیار بیش از ۱/۸ در آزمون خنثی‌سازی ویروس و الایزا داشتند ضریب پیرسون بین متغیرهای مورد بررسی ۰/۹٦ محاسبه شد که نشان‌دهنده ارتباط معنی‌دار و نزدیک بین متغیرهای مورد بررسی فوق می‌باشد (ضریب پیرسون=۰/۹٦).

نتیجه‌گیری: اطلاعات به‌دست آمده نشان داد که آزمون الایزای طراحی شده می‌تواند برای غربالگری و بررسی شیوع آنتی‌بادی‌های ضد هرپس سیمپلکس نوع ۱ استفاده شود که به‌نوبه خود در سازماندهی بیماران خاص برای درمان با به‌کارگیری روش‌های آزمایشگاهی کم هزینه و مناسب مؤثر است.

کلیدواژگان: ویروس‌های هرپس سیمپلکس، خنثی‌سازی ویروس، آزمون الایزا

۱- مقدمه

ویروس هرپس سیمپلکس نوع یک (Herpes Simplex Virus type-1: HSV-1) از خانوادهٔ هرپس ویریده در جنس سیمپلکس ویروس دارای ژنوم DNA دو رشته‌ای است [۱، ۲]. این ویروس عامل ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌های انسانی شامل عفونت‌های سیستمیک در نوزادان و افراد دارای نقص ایمنی، عفونت‌های موضعی غشاهای مخاطی، پوست، قرنیه، ارگان‌های تناسلی و همچنین شایع‌ترین علت آنسفالیت تک‌گیر در ایالات متحده است [۱، ۳]. آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده و ADCC (Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity) پاسخ‌های وابسته به کمپلمان، ۲ تا ٦ هفته پس از عفونت ظاهر می‌شوند و مادام‌العمر باقی می‌مانند [٤]. این ویروس گسترش وسیعی در طبیعت و جوامع مختلف انسانی دارد [۲، ۳] در اثر

* **نشانی مکاتبه:** تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه ویروس‌شناسی، صندوق پستی: ۳۳۱-۱٤۱۱۵
Email: Soleim_h@modares.ac.ir

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-10-12]

تکثیر ویروس در کشت یاخته آثار تخریب ناشی از آن شامل بالونی شدن یاخته‌های آلوده، تولید انکلوژن بادی‌های (Inclusion bodies) داخل هسته‌ای، تشکیل یاخته‌های غول پیکر چندهسته‌ای، حاشیه‌نشینی کروماتین دیده می‌شود. با وجود این‌که عفونت‌های ویروس هرپس در تمام نقاط جهان گستردگی دارند اما در کشورهای در حال توسعه به دلیل سطح پایین بهداشت، دارای شیوع بسیار بالایی هستند [۵]. با توجه به افزایش روزافزون عفونت‌های هرپسی در دستگاه تناسلی و به دنبال آن عفونت‌های هرپسی نوزادان و این‌که این ویروس در نوزادان و افراد دارای نقص سیستم ایمنی معمولاً بیماری کشنده ایجاد می‌کند و تشخیص به موقع و درمان می‌تواند از تعداد مرگ و میر بکاهد [۱، ۵]، بنابراین طراحی روشی سریع و حساس و مقرون به صرفه برای تشخیص عفونت و نیز به‌عنوان آزمون مناسب برای غربالگری در جامعه در معرض خطر "نوزادان، سالمندان و افراد دارای سیستم ایمنی ضعیف شده" به‌منظور سازماندهی درمان، مورد نیاز است. بدین منظور از بین روش‌های تشخیص سرولوژیکی این ویروس، آزمایش الایزا (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: ELISA) و آزمایش خنثی‌سازی ویروس (Virus Neutralization Test: VNT) راه‌اندازی و با هم مقایسه شدند.

در این پژوهش، ELISA با کیت طراحی شده در آزمایشگاه که می‌تواند به‌عنوان آزمون بومی برای غربالگری محسوب شود انجام شد و آزمایش VNT به‌عنوان استاندارد طلایی در نظر گرفته شد.

۲- مواد و روش‌ها

در این تحقیق ابتدا ویروس HSV-1 در سلول‌های BK (R_Kh_BK) (تیره یاخته‌ای رازی- خدمتی) با محیط DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium) تکثیر شد و به روش اسپرمن- کاربر (Spearman-Karber) تیتر آن $10^{-6/75}$ (TCID50) در میلی‌لیتر تعیین شد. آزمایش VNT به روش رقت ثابت ویروس- رقت متغیر سرم (Constant Virus-Varying Serum Dilutions) برای تعیین عیار آنتی‌بادی‌ها علیه HSV-1 در ۵۰۲ نمونه پلاسمای انسانی تهیه شده از سازمان انتقال خون، از بین اهداکنندگان نوبت اول که همگی دارای سن بالاتر از ۱۸ سال و به‌طور تصادفی جمع‌آوری شده بود، انجام شد.

برای انجام این آزمون ابتدا تک لایه‌ای از سلول‌های BK در میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای (NUNC) با محیط کشت DMEM آماده شد، نمونه‌های سرمی تحت مطالعه به‌مدت نیم ساعت در ۵۶ درجه سانتی‌گراد به‌منظور حذف عوامل کمپلمان حرارت داده شدند، سپس رقت‌های متوالی سرم (۱/۲، ۱/٤، ۱/۸، ۱/۱٦، ۱/۳۲، ۱/٦٤، ۱/۱۲۸، ۱/۲٥٦، ۱/٥۱۲) در میکروپلیت ۹٦ خانه‌ای محتوی محیط کشت فاقد سرم تهیه شد، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون ویروسی با رقت $10^{-5/75}$ (معادل TCID50 ۱۰۰ ذره ویروسی) بود، به حجم مساوی از رقت‌های تهیه شده نمونه‌های سرمی اضافه و میکروپلیت به‌مدت یک ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد تا واکنش بین آنتی‌بادی‌های احتمالی موجود در سرم و ذرات ویروسی رخ دهد؛ سپس از هر چاهک محتوی سرم و ویروس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به چاهک همتای خود در میکروپلیت دیگری که حاوی تک لایه سلولی BK بود، اضافه شد. میکروپلیت واجد نمونه یک ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا اگر ویروس خنثی نشده‌ای موجود باشد جذب سلول‌ها شود. سپس ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت به چاهک‌ها اضافه و دوباره به گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. نتایج آثار تخریب سلولی ناشی از تکثیر ویروس (Cytopathic effect: CPE) بعد از ۲٤ ساعت بررسی و ثبت شد. عیار آنتی‌بادی موجود در نمونه‌های سرمی برابر با بالاترین رقت سرمی است که بتواند مانع از فعالیت ویروس در کشت سلول و بروز CPE شود محاسبه شد [۳].

سپس آزمون VNT به‌عنوان استاندارد طلایی برای طراحی ELISA مورد استفاده قرار گرفت که به روش غیررقابتی و غیرمستقیم با ویروس کامل راه‌اندازی شد. برای استاندارد کردن این آزمون از روش چکر بورد (Cheker Bord) به‌ترتیب زیر استفاده شد:

۱- در ابتدا رقت‌های حاوی ۱ و ۵ و ۱۰ و ۲۰ میکروگرم در ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی‌ژن [سوسپانسیون ویروس HSV-1

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-10-12]

تعیین غلظت شده با برادفورد (Bradford)]، با بافر ELISA (بافر ۱۰ میلی‌مولار فسفات سالین با ۷-۶/۸ =pH) تهیه شد. به همین ترتیب رقت‌های ۱/۱۰۰، ۱/۲۰۰، ۱/۵۰۰، ۱/۱۰۰۰، ۱/۱۵۰۰ از پلاسمای افراد نیز در بافر رقیق کننده آنتی‌بادی (برای تهیه این بافر به بافر ELISA ۰/۱ درصد آلبومین سرم گاوی BSA (Bovine Serum Albomin) اضافه شد. این بافر برای رقیق کردن آنتی‌بادی اولیه و ثانویه به‌کار می‌رود) تهیه شد. سپس از هر رقت آنتی‌ژن به میزان ۱۰۰ میکرولیتر در ۲ چاهک میکروپلیت مخصوص ELISA (NUNC) ریخته شد و میکروپلیت به‌مدت ۱۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. این عمل برای اتصال (Coating) آنتی‌ژن به کف چاهک میکروپلیت صورت گرفت. در این مرحله به ازای هر چاهک واجد آنتی‌ژن ویروسی یک چاهک به‌عنوان کنترل منفی آنتی‌ژن در نظر گرفته شد که در آن محیط کشت جمع‌آوری شده از روی سلول‌های BK غیرآلوده به ویروس ریخته شد؛

۲- پس از گرماگذاری ذکر شده میکروپلیت‌ها از گرمخانه خارج شده و تمامی چاهک‌ها در شرایط یکسان توسط بافر شستشو (بافر ELISA فاقد NaCl که دارای توئین ۲۰ به مقدار ۱۲۵ میکرولیتر در هر لیتر است) ٤ بار مورد شستشو قرار گرفتند؛

۳- در مرحله بعد ۱۵۰ میکرولیتر از محلول مسدود کننده (به میزان ۱ گرم BSA در ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر ELISA حل شد) به تمامی چاهک‌ها افزوده شد و به‌مدت یک ساعت میکروپلیت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. این مرحله بدین منظور انجام شد که نقاطی از کف چاهک‌ها، که هیچ‌گونه آنتی‌ژن ندارند، توسط ماده موجود در محلول مسدود کننده (BSA) پوشیده شوند تا در مراحل بعد بروز واکنش‌های غیراختصاصی به حداقل میزان خود برسد؛

٤- میکروپلیت از گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد خارج و ٤ بار شستشو داده شد؛

۵- رقت‌های پلاسمای مثبت و منفی تهیه شده به نحوی به چاهک‌ها اضافه شدند که تمام رقت‌های تهیه شده از سرم مثبت یا منفی در معرض تماس با تمام رقت‌های تهیه شده از آنتی‌ژن باشند و برای هر رقت ۲ چاهک برای پرهیز از خطای احتمالی درنظر گرفته شد. لازم به ذکر است که برای کنترل نمودن نمونه‌های سرم مثبت و منفی ۲ میکروپلیت جداگانه حاوی آنتی‌ژن ویروسی تهیه و به‌طور جداگانه ارزیابی شد و پلیت‌ها به‌مدت یک و نیم ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند؛

٦- مرحله شستشو ٤ بار تکرار شد؛

۷- آنتی‌بادی کونژوگه با پراکسیداز (Horse Radish Peroxidase: HRP) با رقت ۱/۱۵۰۰، ۱/۳۰۰۰، ۱/٤۰۰۰ طوری به چاهک‌ها افزوده شد که هر رقتی از آنتی‌ژن و سرم در مقابل با هر سه رقت از رقت‌های آنتی‌بادی ثانویه قرار گیرد و به‌مدت یک ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد؛

۸- مرحله شستشو ٦ بار انجام گرفت تا آنتی‌بادی کونژوگه اضافی کاملاً شستشو شود؛

۹- به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از محلول سوبسترا- کروموژن (Chromoden)، تترا متیل بنزیدین (Tetramethylbenzidine: TMB) اضافه شد و به‌مدت ۱۰-۱۲ دقیقه در دمای اتاق و دور از نور نگهداری شد؛

۱۰- در این مرحله با اضافه کردن ۵۰ میکرولیتر اسید سولفوریک ۲ مولار واکنش رنگ‌زایی متوقف شد؛

۱۱- نتایج توسط دستگاه قرائت‌گر ELISA (ELISA Reader)، در طول موج ٤۹۲ نانومتر قرائت شد؛

در تمامی آزمایش‌های فوق و در هر سری آزمایش ELISA، کنترل‌های مثبت و منفی آنتی‌ژن، کنترل‌های مثبت و منفی سرم بیمار و همچنین کنترل آنتی‌بادی کونژوگه وجود داشت.

بالاترین رقت آنتی‌ژن که بیشترین اختلاف را در جذب نمونه‌های پلاسمای مثبت و منفی در مقایسه با کنترل منفی آنتی‌ژن داشتند به‌عنوان مناسب‌ترین رقت ویروس و آنتی‌بادی اولیه و آنتی‌بادی ثانویه محسوب شد. برای تعیین رقت آنتی‌بادی اولیه و آنتی‌بادی ثانویه و نیز غلظت آنتی‌ژن آزمایش با سرم‌های استاندارد تعیین عیار شده انجام گرفت و بنابراین رقت ۱/۵۰۰ از آنتی‌بادی اولیه (سرم افراد تحت آزمایش) و رقت ۱/٤۰۰۰ از آنتی‌بادی ثانویه (Goat anti human IgG conjugated with HRP) و

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-10-12]

۱۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی‌ژن (سوسپانسیون ویروس که با روش برادفورد تعیین غلظت شده بود) به‌منظور انجام آزمایش‌ها در نظر گرفته شد. در این روش، ابتدا آنتی‌ژن مورد نظر به فاز جامد (پلیت ۹٦ خانه‌ای NUNC) متصل شد و پس از افزودن آنتی‌بادی اولیه و انجام مراحل شستشو، آنتی‌بادی ثانویه اضافه و درنهایت با افزودن سوبسترای کروموژن TMB، میزان تغییر رنگ که در نتیجه فعالیت آنزیم متصل به آنتی‌بادی ثانویه است، توسط دستگاه قرائت‌گر ELISA در طول موج ٤۹۲ نانومتر اندازه‌گیری شد که در واقع میزان فعالیت آنزیم به‌طور غیرمستقیم میزان آنتی‌بادی را معین می‌کند.

سپس آزمون ELISA به‌ترتیب زیر انجام شد:

۱- به چاهک‌های میکروپلیت ۹٦ خانه‌ای ELISA، ۱۰۰ میکرولیتر از رقت آنتی‌ژن که حاوی ۱۰ میکروگرم از آنتی‌ژن ویروسی است، اضافه شد و در مقابل هر چاهک از آنتی‌ژن یک چاهک حاوی ۱۰۰ میکرولیتر از کنترل منفی آنتی‌ژن با همان غلظت پروتئینی افزوده شد و به‌مدت ١٤ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت؛

۲- مرحله شستشو ٤ بار انجام گرفت؛

۳- ۱۵۰ میکرولیتر از محلول مسدود کننده به تمامی چاهک‌ها افزوده شد و به‌مدت یک ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت؛

٤- مرحله شستشو تکرار شد؛

٥- رقت ۱/٥۰۰ از نمونه‌های پلاسما با بافر رقیق‌کننده آنتی‌بادی تهیه شد و ۱۰۰ میکرولیتر از هر نمونه به چاهک‌های حاوی آنتی‌ژن و کنترل منفی آنتی‌ژن، افزوده شد. میکروپلیت به‌مدت یک و نیم ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت؛

٦- مرحله شستشو تکرار شد؛

۷- رقت ۱/٤۰۰۰ از آنتی‌بادی ثانویه تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر از آن به تمامی چاهک‌ها افزوده شد؛

۸- شستشو ٦ بار انجام گرفت؛

۹- در این مرحله به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از سوبسترا- کروموژن (TMB) اضافه و به‌مدت ۱۰- ۱۲ دقیقه دور از نور نگهداری شد؛

۱۰- برای متوقف کردن واکنش رنگ‌زایی، ٥۰ میکرولیتر اسیدسولفوریک ۲ مولار به چاهک‌ها افزوده شد؛

۱۱- نتایج توسط دستگاه قرائت‌گر ELISA در طول موج ٤۹۲ نانومتر قرائت شد.

نتایج ELISA با تعیین سطح حداقل (Cut off) محاسبه شد. برای این منظور ۲۰ نمونه پلاسمایی که با VNT و کیت ELISA تجاری نتایج منفی داشتند توسط ELISA طراحی شده آزمایش شدند و میانگین جذب نوری آن‌ها برابر با ۰/٤ شد که به‌عنوان سطح حداقل در نظر گرفته شد [٦-۸].

۳- نتایج

در آزمایش VNT نمونه‌هایی که عیار آنتی‌بادی کمتر از ۱/۸ شد به‌عنوان منفی در نظر گرفته شدند در نتیجه ۹۸ نمونه غیرایمن (منفی) و ٤۰٤ نمونه ایمن (مثبت) تشخیص داده شد (جدول ۱).

جدول ۱ فراوانی عیار آنتی‌بادی در نمونه‌های پلاسمای تحت آزمایش VNT

عیار VNT	فراوانی	درصد فراوانی
۱/۸<	۹۸	۱۹/٥۲
۱/۸	٤۸	۹/٥٦
۱/۱٦	٥۸	۱۱/٥٥
۱/۳۲	۱۰٤	۲۰/۷۲
۱/٦٤	۱۰٥	۲۰/۹۲
۱/۱۲۸	٦٦	۱۳/۱٥
۱/۲٥٦	۱۸	۳/٥۸
۱/٥۱۲	٥	۰/۹۹
مجموع	٥۰۲	۱۰۰ درصد

آزمون ELISA طراحی شده نیز روی تمام نمونه‌ها انجام شد و نتایج به این ترتیب به‌دست آمد که: ۹۲ نمونه (۱۸/۳۳ درصد از کل نمونه‌ها) غیرایمن و ٤۱۰ نمونه (۸۱/٦۷ درصد از کل نمونه‌ها) ایمن تشخیص داده شدند. تمام نمونه‌های غیرایمن با ELISA با VNT هم غیرایمن تشخیص داده شدند (جدول ۲).

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-10-12]

جدول ۲ اعتبار آزمون ELISA

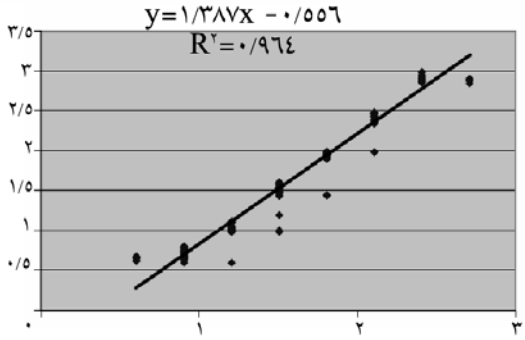
نتایج VNT	VNT مثبت	VNTمنفی	
نتایج ELISA مثبت	۳۸۳	۲۷	٤۱۰
نتایجELISA منفی	۲۱	۷۱	۹۲
کل	٤۰٤	۹۸	۵۰۲

براساس نتایج بـه‌دسـت آمـده از مقایـسه ایـن دو آزمـون، حساسیت آزمون ELISA برابر ۰/۹٤ و ویژگی آن برابـر ۰/۷۲ محاسبه شد.

با به‌کارگیری نرم‌افزار آماری Excel و با توجه به اطلاعات به‌دست آمده از نمونه‌های پلاسـمای مربـوط، توسـط ELISA طراحـی شـده و آزمـایش VNT معادلـه خـط رگرسـیون (Regression) پس از رسم Scatter Plot (شکل ۱) به‌دست آمد که عبارت است از:

۰/۵۵٦– (لگاریتم ارزش خنثی‌سازی) ۱/۳۸۷۳= (ELISA) جذب نوری

همچنین میزان ضریب پیرسون (Pearson) برای متغیرهای فوق ۰/۹٦ تعیین شد که نشان‌دهنده ارتبـاط معنـی‌دار و بـسیار نزدیک بین متغیرهای مورد بررسی است.



شکل ۱ Scatter Plot مربوط به ELISA طراحی شده و VNT

٤- بحث

HSV از جمله شـایع‌تـرین و مـسری‌تـرین ویـروس‌هـای بیماری‌زا در انسان است. بسیاری از عفونـت‌هـای ایجـاد شـده بدون علامت بوده و از راه دهان، دستگاه تنفس، تماس مستقیم شخص به شخص، بزاق، تماس جنسی و در زمان عبـور نـوزاد از کانال زایمان در زنـانی کـه بـه نـوع یـک و دو ویـروس در دستگاه تناسلی مبتلا هستند، انتقال می‌یابـد [۲]. عفونـت اولیـه معمولاً به‌صورت تاول‌های مجتمع و دسـته‌ای روی پوسـت یـا غشاهای مخاطی ظاهر می‌شود که به شکل التهاب دهان، التهاب لثه‌ها و التهاب حلق نیز مشاهده می‌شـود. ایـن ویـروس‌هـا در نوزادان و افراد دارای نقص در سیستم ایمنـی مـی‌توانـد باعـث آلودگی کبد، غدد آدرنال، چشم‌ها و به دنبـال آن کـوری شـود. همچنین با هجوم به سیستم اعصاب مرکزی و مغز باعث بـروز آسفالیت، مننژیت و مرگ می‌شود [۹،۳،۱].

در کشور ما هم با توجه به اطلاعات کتابخانه‌ای و مراجعـه به منابع، مطالعات مشابه کم و اغلب در جمعیت‌های محدود یا برای راه‌اندازی آزمون انجام گرفته است [۱۰،۸].

در مطالعه‌ای که در سال‌های اخیر در ژاپن انجـام شـده اسـت نشان داده شده که شیوع HSV-2 و HSV-1 در مراجعـه‌کننـدگان به کلنیک در سنین ۱٦– ٤۰ سال ٦۳ درصد بوده است [۱۱].

در مطالعه دیگر با دو روش ELISA و VNT در کودکـان عیار آنتی‌بادی به‌ترتیب ٦۲/٦ درصد و ۵۷/۳ درصد با ELISA و VNT نـشان داده شـده اسـت [۱۲]. در مطالعـه‌ای در سـال ۲۰۰۵ مـیلادی در هنـد، شـیوع HSV-2 و HSV-1 در مراجعه‌کنندگان به کلنیک در سنین ۱– ۱٤ سال به‌ترتیـب ۸۵/۲ و ۷۷/۳ درصد گزارش شده است [۱۱].

با توجه به اهمیت عفونت‌های هرپس تـشخیص بـه موقـع در افراد حساس و اقـدام بـرای درمـان و سـازماندهی بیمـاران بـسیار ضروری است. در این مطالعه با طراحـی آزمـون ELISA خـانگی ضمن تعین عیار ویروس حساسیت و ویژگی آزمون محاسبه شد.

برای به‌دست آوردن یک ارتباط منطقی مابین جواب‌های به‌دست آمده از کیت ELISA به‌کار رفته در پژوهش حاضر با نتایج حاصل از آزمایش VNT، با استفاده از علم آمـار حیـاتی و نـرم‌افـزاری آمـاری Excel معیارهایی نظیر میزان همبستگی بین کیت مـذکور و آزمـایش VNT ارزیابی و این‌طور تعیین شد کـه لگـاریتم بـر مبنـای ۱۰ عیـار به‌دست آمده برای هر نمونه پلاسما می‌توانـد رابطـه منطقـی‌تـری بـا جذب نوری قرائت شده نمونه مذکور، توسط کیـت ELISA داشـته باشد. به همـین منظـور میـزان (R-Square) ضـریب پیرسـون بـین جذب‌های نوری قرائت شده توسط کیت ELISA و نتـایج حاصـل

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-10-12]

از آزمایش VNT محاسبه شد. به‌طور کلی چنانچه میزان ضریب پیرسون محاسبه شده بین دو متغیر یک یا نزدیک به یک باشد نشان‌دهنده ارتباط کامل و معنی‌دار بین دو متغیر مورد بررسی است. چنانچه این میزان (۱-) باشد نشان‌دهنده ارتباط معکوس بین دو متغیر است و چنانچه این ضریب صفر محاسبه شود نشان‌دهنده عدم ارتباط بین متغیرهای مورد آزمایش است.

حال با توجه به این‌که ضریب پیرسون محاسبه شده در این پژوهش ۰/۹۶ است، بنابراین ارتباط بین متغیرهای مورد بررسی فوق، معنی‌دار و نزدیک است.

با توجه به این نتایج و سادگی و سرعت انجام کار و عدم نیاز به تهیه سرم و مواد در شرایط استریل، روش ELISA به‌عنوان روش جایگزین VNT برای نشان دادن آنتی‌بادی ضد HSV در نمونه‌های سرم به‌ویژه در مطالعات اپیدمیولوژیکی و میدانی باشد و می‌تواند برای غربالگری به‌کار رود.

۵- تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس برای حمایت مالی از انجام پژوهش و سازمان انتقال خون برای تأمین نمونه‌های پلاسمایی صمیمانه تشکر می‌نمایند.

٦- منابع

[1] Nesburn AB, Ghiasi H, Wechsler SL. Ocular safety and efficacy of an HSV-1 gD vaccine during primary and latent infection. Invest Ophthalmol Vis Sci 1990; 31(8): 1497-502.

[2] Cleator G, Klapper P, Herpes simplex, In: Principles and practice of clinical virology. WILY 2000; p: 23-45.

[3] Roizman B and Knipe G, Herpes simplex viruses. Vol. 2, Lippicott Williams & Wilkins: Fields virology, 2007; p: 2501-603.

[4] Whitley RJ, Kimberlin DW, Roizman B. Herpes simplex viruses. Clin Infect Dis 1998; 26(3): 541-53.

[5] Osorio Y, Ghiasi H. Recombinant herpes simplex virus type 1 (HSV-1) codelivering interleukin-12p35 as a molecular adjuvant enhances the protective immune response against ocular HSV-1 challenge. J Virol 2005; 79(6): 3297–308.

[6] Arama V, Vladareanu R, Mihailescu R, Streinu Cercel A, Mihai C, Hristea A, Iosipenco M, Arama SS, Rabilloud M. Seroprevalence and risk factors associated with herpes simplex virus infection among pregnant women. J Perinat Med 2008; 36(3): 206-12.

[7] Sauerbrei A, Wutzler P. Laboratory diagnosis of central nervous system infections caused by herpesviruses. J Clin Virol 2002; 25(suppl 1): S45-51.

[8] Zandi K, Roostaee MH, Sadeghizadeh M, Rasaee MJ, Sajedi RH, Soleimanjahi H. Production of recombinant gG-1 protein of herpes simplex virus type 1 in a prokaryotic system in order to develop a type-specific enzyme-linked immunosorbent assay kit. FEMS Immunol Med Microbiol 2007; 50(3): 319-23.

[9] Naito K, Hashimoto T, Ikeda S. Herpes simplex virus type-1 meningoencephalitis showing disseminated cortical lesions. Intern Med 2007; 46(11): 761-3.

[10] Ziyaeyan M, Japoni A, Roostaee MH, Salehi S, Soleimanjahi H. A serological survey of Herpes Simplex Virus type 1 and 2 immunity in pregnant women at labor stage in Tehran, Iran. Pak J Biol Sci 2007; 10(1): 148-51.

[11] Kaur R, Gupta N, Baveja UK. Seroprevalence

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-10-12]

Gumusova S, Birinci A, Sancak R, Ozturk F. Distribution of HSV-1 IgG antibodies by two methods comparing in Turkish atopic children. New Microbiol 2007; 30(2): 109-12.

of HSV1 and HSV2 infections in family planning clinic attenders. J Commun Dis 2005; 37(4): 307-9.

[12] Artiran Igde F, Igde M, Yazici Z, Okur

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-10-12]