

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

کبرا رضوی‌پاشاییگ^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

پذیرش مقاله: ۸۷/۱۲/۲۱

دریافت مقاله: ۸۷/۹/۲۰

چکیده

هدف: ویروس‌های هرپس سیمپلکس، عامل عفونت‌های انسانی مسئول تولید عفونت‌های ماندگار و نهفته، در سراسر جهان محسوب می‌شوند. عفونت‌های ویروس هرپس سیمپلکس اغلب به صورت 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 در سلول‌های BK تکثیر یافت و عیار آنتی‌بادی‌ها علیه ویروس هرپس سیمپلکس در ۵۰۲ نمونه جمع آوری شده با آزمون خنثی‌سازی ویروس به عنوان استاندارد طلایی و الایزا طراحی شده تعیین شد.

نتایج: براساس نتایج بدست آمده به ترتیب ۸۰/۴۸ و ۸۱/۶۷ درصد عیار بیش از ۱/۸ در آزمون خنثی‌سازی ویروس و الایزا داشتند ضریب پیرسون بین متغیرهای مورد بررسی ۰/۹۶ محاسبه شد که نشان‌دهنده ارتباط معنی دار و نزدیک بین متغیرهای مورد بررسی فوق می‌باشد (ضریب پیرسون=۰/۹۶).

نتیجه‌گیری: اطلاعات بدست آمده نشان داد که آزمون الایزا 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 به کارگیری روش‌های آزمایشگاهی کم هزینه و مناسب مؤثر است.

کلیدواژگان: ویروس‌های هرپس سیمپلکس، خنثی‌سازی ویروس، آزمون الایزا

۱ - مقدمه

ارگان‌های تناسلی و همچنین شایع‌ترین علت آنسفالیت تک‌گیر در ایالات متحده است [۱، ۳]. آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده و (Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity) ADCC پاسخ‌های واپسی به کمپلمان، ۲ تا ۶ هفته پس از عفونت ظاهر می‌شوند و مادام‌العمر باقی می‌مانند [۴]. این ویروس گسترش وسیعی در طبیعت و جوامع مختلف انسانی دارد [۲، ۳] در اثر

ویروس هرپس سیمپلکس نوع یک (Herpes Simplex Virus type-1: HSV-1) از خانواده 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 غشاء‌های مخاطی، پوست، قرنیه،

* نشانی مکاتبه: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه ویروس‌شناسی، صندوق پستی: ۱۴۱۱۵-۳۳۱

Email: Soleim_h@modares.ac.ir

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 متوازی سرم (۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶، ۱/۳۲، ۱/۶۴، ۱/۱۲۸، ۱/۲۵۶، ۱/۵۱۲) در میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای محتوی محیط کشت فاقد سرم تهیه شد، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون ویروسی با رقت $10^{-5.75}$ (معادل 100 TCID_{50} 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 گرمانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. نتایج آثار تخریب (Cytopathic effect: CPE) بعد از ۲۴ 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) به ترتیب 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]

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 این که عفونت‌های ویروس هرپس در تمام نقاط جهان گسترده‌گی دارد 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 این که 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 روشنی سریع و حساس و مقرن به صرفه برای تشخیص عفونت و نیز به‌عنوان آزمون مناسب برای غربالگری در جامعه در معرض خطر "نوزادان، سالمدان 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) آراماندازی 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 (Dulbecco's Modified Eagles Medium) DMEM تکثیر شد و به روش اسپرمن- کاربر (Spearman-Karber) تیتر آن $10^{-5.75}$ (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

آنتی ژن 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 آنتی ژن ویروسی تهیه و به طور جداگانه ارزیابی شد و پلیت‌ها به مدت یک و نیم ساعت در گرماخانه ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند؛

۶- مرحله شستشو ۴ بار تکرار شد؛

۷- آنتی‌بادی کونژوگه با پراکسیداز (Horse Radish Peroxidase: HRP) با رقت ۱/۱۵۰۰، ۱/۳۰۰۰، ۱/۴۰۰۰ بازگشایی کرد. طوری به چاهک‌ها افزوده شد که هر رقتی از آنتی ژن و سرم در مقابل با هر سه رقت از رقت‌های آنتی‌بادی ثانویه قرار گیرد و به مدت یک ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد گرمگذاری شد؛

۸- مرحله شستشو ۶ بار انجام گرفت تا آنتی‌بادی کونژوگه اضافی کاملاً شستشو شود؛

۹- به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از محلول سوبسترا کروموزن (Chromoden)، تترامیتل بنزیدین (TMB) اضافه شد و به مدت ۱۰ 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 Reader) در طول موج ۴۹۲ نانومتر قرائت شد؛

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

بالاترین رقت آنتی ژن که بیشترین اختلاف را در جذب نمونه‌های پلاسمای مثبت و منفی در مقایسه با کنترل منفی آنتی ژن داشتند به عنوان مناسب‌ترین رقت ویروس و آنتی‌بادی اولیه و آنتی‌بادی ثانویه محسوب شد. برای تعیین رقت آنتی‌بادی اولیه و آنتی‌بادی ثانویه نیز غلظت آنتی ژن آزمایش با سرم‌های استاندارد تعیین عیار شده انجام گرفت و بنابراین رقت ۱/۵۰۰۰ از آنتی‌بادی اولیه (سرم افراد تحت آزمایش) و رقت ۱/۴۰۰۰ از آنتی‌بادی ثانویه (Goat anti human IgG conjugated with HRP) و

تعیین غلظت شده با برادفورد (Bradford)، با بافر (bafer) ۱۰ میلی‌مolar فسفات سالین با pH= ۷/۸-۷ (pH= ۷/۸-۷) 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 ۰/۱ ELISA درصد آلبومین سرم گاوی (Bovine Serum Albomin) BSA اضافه شد. این بافر برای رقیق کردن آنتی‌بادی اولیه و ثانویه به کار می‌رود) تهیه شد. سپس از هر رقت آنتی ژن به میزان ۱۰۰ میکرولیتر در ۲ چاهک میکروپلیت مخصوص (NUNC) ELISA ریخته شد و میکروپلیت به مدت ۱۴ ساعت در گرماخانه ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. این عمل برای اتصال (Coating) آنتی ژن به کف چاهک میکروپلیت صورت گرفت. در این مرحله به ازای هر چاهک واحد آنتی ژن ویروسی یک چاهک به عنوان کنترل منفی آنتی ژن در نظر گرفته شد که در آن محیط کشت جمع‌آوری شده از روی سلول‌های BK غیرآلوده به ویروس ریخته شد؛

۲- پس از گرمگذاری ذکر شده میکروپلیت‌ها از گرماخانه خارج شده و تمامی چاهک‌ها در شرایط یکسان توسط بافر شستشو (باfer NaCl فاقد ELISA که دارای توهین ۲۰ به مقدار ۱۲۵ میکرولیتر در هر لیتر است) ۴ بار مورد شستشو قرار گرفتند؛

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

۴- میکروپلیت از گرماخانه ۳۷ درجه سانتی گراد خارج و ۴ 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

- دور از نور نگهداری شد؛
- ۱۰- برای متوقف کردن واکنش رنگ‌زایی، ۵۰ میکرولیتر اسید‌سولفوریک ۲ مولار به چاهک‌ها افزوده شد؛
- ۱۱- نتایج توسط دستگاه قرائت‌گر ELISA در طول موج ۴۹۲ 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 ۰/۴ شد که به عنوان سطح حداقل در نظر گرفته شد [۸-۶].

۳- نتایج

در آزمایش VNT نمونه‌هایی که عیار آنتی‌بادی کمتر از ۱/۸ شد به عنوان منفی در نظر گرفته شدند در نتیجه ۹۸ نمونه غیرایمن (منفی) و ۴۰۴ نمونه ایمن (مثبت) تشخیص داده شد (جدول ۱).

جدول ۱ فراوانی عیار آنتی‌بادی در نمونه‌های پلاسمایی تحت آزمایش VNT

درصد فراوانی	فراوانی	عیار VNT
۱۹/۵۲	۹۸	۱/۸<
۹/۵۶	۴۸	۱/۸
۱۱/۰۰	۵۸	۱/۱۶
۲۰/۷۲	۱۰۴	۱/۳۲
۲۰/۹۲	۱۰۵	۱/۶۴
۱۳/۱۵	۶۶	۱/۱۲۸
۳/۵۸	۱۸	۱/۲۵۶
۰/۹۹	۵	۱/۵۱۲
۱۰۰ درصد	۵۰۲	مجموع

آزمون ELISA طراحی شده نیز روی تمام نمونه‌ها انجام شد و نتایج به این ترتیب بدست آمد که: ۹۲ نمونه (۱۸/۳۳) درصد از کل نمونه‌ها غیرایمن و ۴۱۰ نمونه (۸۱/۶۷) تمام نمونه‌های غیرایمن با ELISA با VNT هم غیرایمن تشخیص داده شدند (جدول ۲).

۱۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی‌ژن (سوپاپنسیون ویروسی) با روش برادرفورد تعیین غلظت شده بود) به منظور انجام آزمایش‌ها در نظر گرفته شد. در این روش، ابتدا آنتی‌ژن مورد نظر به فاز جامد (پلیت ۹۶ خانه‌ای NUNC) متصل شد و پس از افزودن آنتی‌بادی اولیه و انجام مراحل شستشو، آنتی‌بادی ثانویه اضافه و درنهایت با افزودن سوپرستراپ کروموزن TMB، میزان تغییر رنگ که در نتیجه فعالیت آنزیم متصل به آنتی‌بادی ثانویه است، توسط دستگاه قرائت‌گر ELISA در طول موج ۴۹۲ نانومتر اندازه‌گیری شد که در واقع میزان فعالیت آنزیم به طور غیرمستقیم میزان آنتی‌بادی را معین می‌کند.

سپس آزمون ELISA به ترتیب زیر انجام شد:

- به چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ELISA، 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 به مدت ۱۴ ساعت در گرماخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت؛

۲- مرحله شستشو ۴ بار انجام گرفت؛

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

۴- مرحله شستشو تکرار شد؛

- رقت ۱/۵۰۰ از نمونه‌های پلاسمایی با بافر رقیق کننده آنتی‌بادی تهیه شد و ۱۰۰ میکرولیتر از هر نمونه به چاهک‌های حاوی آنتی‌ژن و کنترل منفی آنتی‌ژن، افزوده شد. میکروپلیت به مدت یک و نیم ساعت در گرماخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت؛

۶- مرحله شستشو تکرار شد؛

- رقت ۱/۴۰۰۰ از آنتی‌بادی ثانویه تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر از آن به تمامی چاهک‌ها افزوده شد؛

۸- شستشو ۶ بار انجام گرفت؛

- در این مرحله به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از سوپرستراپ کروموزن (TMB) اضافه و به مدت ۱۲ دقیقه

دستگاه تناسلی مبتلا هستند، انتقال می‌یابد [۲]. عفونت اولیه معمولاً به صورت تاول‌های مجتمع و دسته‌ای روی پوست یا غشاهای مخاطی ظاهر می‌شود که به شکل التهاب دهان، التهاب لثه‌ها و التهاب حلق نیز مشاهده می‌شود. این ویروس‌ها در نوزادان و افراد دارای نقص در سیستم ایمنی می‌تواند باعث آلودگی کبد، عدد آدرنال، چشم‌ها و به دنبال آن کوری شود. همچنین با هجوم به سیستم اعصاب مرکزی و مغز باعث بروز آسفالیت، منژیت و مرگ می‌شود [۹۳، ۹۴].

در کشور ما هم با توجه به اطلاعات کتابخانه‌ای و مراجعه 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 انجام شده است نشان داده شده که شیوع HSV-2 و HSV-1 در مراجعه‌کنندگان به کلینیک در سالین ۱۶-۱۶ سال ۶۳ درصد بوده است [۱۱]. در مطالعه دیگر با دو روش ELISA و VNT در کودکان عیار آنتی‌بادی به ترتیب ۶۲/۶ درصد و ۵۷/۳ درصد با ELISA و VNT نشان داده شده است [۱۲]. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۵ میلادی در هند، شیوع HSV-2 و HSV-1 در مراجعه‌کنندگان به کلینیک در سالین ۱۴-۱ سال به ترتیب ۸۵/۲ و ۷۷/۳ درصد گزارش شده است [۱۱].

با توجه به اهمیت عفونت‌های هرپس تشخیص به موقع در افراد حساس و اقدام برای درمان و سازماندهی بیماران بسیار ضروری است. در این مطالعه با طراحی آزمون ELISA خانگی ضمن تعیین عیار ویروس حساسیت و ویژگی آزمون محاسبه شد.

برای به دست آوردن یک ارتباط منطقی مابین جواب‌های به دست آمده از کیت ELISA به کار رفته در پژوهش حاضر با نتایج حاصل از آزمایش VNT، با استفاده از علم آمار حیاتی و نرم‌افزاری آماری Excel معیارهای نظری میزان همبستگی بین کیت مذکور و آزمایش VNT ارزیابی و این‌طور تعیین شد که لگاریتم بر مبنای ۱۰ عیار به دست آمده برای هر نمونه پلاسمای می‌تواند رابطه منطقی تری با جذب نوری قرائت شده نمونه مذکور، توسط کیت ELISA داشته باشد. به همین مظور میزان (R-Square) ضریب پیرسون بین جذب‌های نوری قرائت شده توسط کیت ELISA و نتایج حاصل

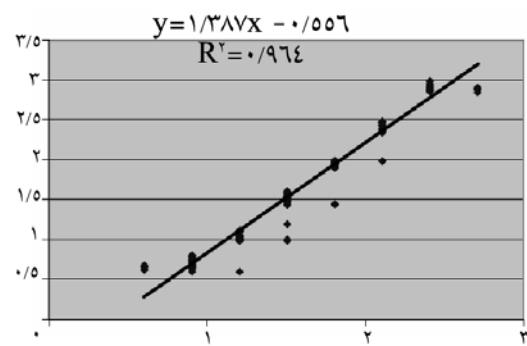
جدول ۲ اعتبار آزمون ELISA

	VNT منفی	VNT مثبت	نتایج VNT
۴۱۰	۲۷	۳۸۳	نتایج ELISA مثبت
۹۲	۷۱	۲۱	نتایج ELISA منفی
۵۰۲	۹۸	۴۰۴	کل

براساس نتایج به دست آمده از مقایسه این دو آزمون، حساسیت آزمون ELISA برابر ۰/۹۴ و ویژگی آن برابر ۰/۷۲ محاسبه شد.

با به کار گیری نرم‌افزار آماری Excel و با توجه به اطلاعات به دست آمده از نمونه‌های پلاسمای مربوط، توسط طراحی شده و آزمایش VNT معادله خط رگرسیون (Regression) (پس از رسم Scatter Plot (شکل ۱) به دست آمد که عبارت است از:

$y = ۱/۳۸۷۳X - ۰/۰۵۶$ (لگاریتم ارزش خشی‌سازی) (ELISA) جذب نوری همچنین میزان ضریب پیرسون (Pearson) برای متغیرهای فوق ۰/۹۶ تعیین شد که نشان‌دهنده ارتباط معنی‌دار و بسیار نزدیک بین متغیرهای مورد بررسی است.



شکل ۱ مربوط به ELISA طراحی شده و VNT

۴- بحث

HSV از جمله شایع‌ترین و مسری‌ترین ویروس‌های بیماری‌زا در انسان است. بسیاری از عفونت‌های ایجاد شده بدون علامت بوده و از راه دهان، دستگاه تنفس، تماس مستقیم شخص به شخص، بزاق، تماس جنسی و در زمان عبور نوزاد از کانال زایمان در زنانی که به نوع یک و دو ویروس در

نیاز به تهیه سرم و مواد در شرایط استریل، روش ELISA به عنوان روش جایگزین VNT برای نشان دادن آنتی‌بادی ضد HSV در نمونه‌های سرم به‌ویژه در مطالعات اپیدمیولوژیکی و میدانی باشد و می‌تواند برای غربالگری به کار رود.

۵- تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان 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.

از آزمایش VNT محاسبه شد. به طور 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 این که 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

۶- 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, Lippcott 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, Sadeghzadeh M, Rasaei 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

- 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 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.

