

بررسی فراوانی آنتی بادی ضد هرپس سیمپلکس ویروس نوع II در زنان باردار

مراجعه کننده به بیمارستان 22 بهمن و آریا در سال 92-93

فاطمه حبیبی¹، سیما افشارنژاد¹، نوشین باباپور¹، ملیحه معین جوزان²

(1) استادیار، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی مشهد، مشهد، ایران.

(2) دانشجوی رشته پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی مشهد، مشهد، ایران

چکیده:

مقدمه: عفونت های ناشی از HSV در بسیاری از کشورهای جهان به صورت اندمیک وجود دارند. تعداد افرادی که دارای آنتی بادهای ضد ویروس هستند متفاوت است و به طور عمده به گروههای مورد مطالعه بستگی داشته است. شیوع بالای هرپس و عوارض ناشی از آن به خصوص در نوزادان نشان می دهد که توسعه برنامه های پیشگیری و شناسایی مادران سرپوزتیو و سرو نگاتیو از لحاظ ارتقای سطح بهداشت عمومی و کاهش صدمات ناشی از عفونت ویروس بسیار با اهمیت است. از طرفی انتقال عفونت از افراد بدون علامتی که سرپوزتیو هستند، اهمیت مطالعات اپیدمیولوژیک سطح سرمی ویروس را دوچندان می کند. لذا با توجه به اهمیت موضوع و نقش مهم مطالعات اپیدمیولوژیک در سیاست گذاریهای بهداشتی جامعه، مبنای پژوهش ما مطالعه فراوانی سرمی HSV-2 در مادران باردار گذاشته شد.

روش کار: در یک مطالعه مقطعی از تعداد 135 نفر خانم باردار مراجعه کننده به بیمارستان های آریا و 22 بهمن در سال 92-93 نمونه خون گرفته شد. همچنین آنها پرسشنامه هایی را جهت بررسی اثر هفت عامل: سن، شغل، میزان تحصیلات، تعداد بارداری، تعداد سقط، تعداد شرکای جنسی و سطح درآمد تکمیل کردند. در ادامه سرم نمونه ها جدا شده و از نظر وجود IgG برای HSV-2 با استفاده از کیت های الیزا بررسی شدند. نتایج: از بین این 135 نفر، 4 نفر برای HSV-2 مثبت شدند که 2/6٪ جامعه آماری ما را تشکیل می داد و با توجه به داده های آماری و آزمون های آماری مناسب، این مثبت شدن به سن، شغل، میزان تحصیلات، تعداد بارداری، تعداد سقط، تعداد شرکای جنسی و سطح درآمد ارتباطی نداشت.

نتیجه گیری: در مطالعه ی ما 2/6٪ افراد از نظر HSV-2 مثبت شدند. تمامی افرادی که مثبت شدند سن بالای 30 سال ، شغل خانه دار و تحصیلات زیر دیپلم داشتند اما به جهت کم بودن تعداد مثبت شده ها ، از لحاظ آماری هیچ رابطه ی معناداری بین سن ، شغل و سطح تحصیلات با HSV-2 پیدا نشد

کلمات کلیدی: هرپس سیمپلکس ویروس، فراوانی سرمی، زنان باردار

مقدمه:

هرپس ویروس‌های انسانی براساس تفاوت خصوصیات ویروس (ساختمان ژنوم، گرایش بافتی، اثرات سیتوپاتولوژیک و مکان عفونت مخفی) و همچنین پاتوژنز و تظاهرات بیماری به چند زیر خانواده تقسیم می‌شوند. ویروس‌های هرپس سیمپلکس تیپ 1 و 2، ویروس واریسلازوستر، ویروس اپشتاین بار EBV، سیتومگالو ویروس CMV و هرپس ویروس انسانی تیپ 6، 7 و 8 که اخیراً شناسایی شده‌اند و در ارتباط با کاپوسی سارکوما بوده است (1).

دو نوع از ویروس هرپس سیمپلکس (HSV-1 و HSV-2) وجود دارد که در برخی از صفات مانند تشابه DNA و شاخصهای آنتی ژنی، گرایش بافتی و علائم بیماری مشابه هم هستند (2). هرپس سیمپلکس سبب ابتلاء مناطق مختلف بدن نظیر لبها، دستگاه تناسلی، پوست، چشمها و گاهی دستگاه عصبی مرکزی و دیگر دستگاههای داخل بدن از جمله: ریه، کبد، مری و غیره می‌شود. در عفونت مادرزادی، در ماههای اولیه زندگی جنین ویروس هرپس ممکن است در تشکیل اندام‌ها اختلال ایجاد کند و همچنین با میکروسفالی، کلسیفیکاسیونهای داخل جمجمه، کوریوریتینیت، کاتاراکت، آهکی شدن کبد، نقایص قلبی و محدودیت رشد جنین و حتی می‌تواند مرگ در نوزاد را ایجاد کند. در اکثر بررسی‌های انجام شده 30 درصد از عفونتهای هرپس نوزادی در اثر هرپس سیمپلکس نوع یک و 70 درصد در اثر هرپس سیمپلکس نوع 2 ایجاد می‌شود (3).

HSV-1 متمایل به ایجاد عفونت‌ها دهانی عود کننده است در حالی که HSV-2 تمایل بیشتری به عفونت‌های مکرر ژنیتال دارد به همین دلیل HSV-1 معمولاً ناشی از تماس با ترشحات دهانی آلوده می‌باشد ولی عفونت HSV-2 اکثراً ناشی از تماس انورژیتال می‌باشد. شیوع سروتایپ‌های HSV در کشورهای در حال توسعه و اقشار کم درآمد جامعه در بالاترین میزان است گرچه میزان بالای عفونت‌های HSV-1 و HSV-2 در کشورهای توسعه یافته در بین اقشار اجتماعی اقتصادی نیز به چشم می‌خورد. عفونت‌های اتفاقی HSV-1 در دوره‌ی کودکی و جوانی شایعتر است ولی در سراسر دوره‌های بعدی زندگی وجود دارد.

به طور کلی شیوع سروتیپی 41/7٪ در سیاه‌پوستان، 13/6٪ در مکزیکی‌ها و 13٪ در سفیدپوستان وجود داشته است

اکثر عفونت های HSV خودبه خود کنترل می شوند و از چند روز (برای عفونت های مکرر) تا دو سه هفته طول می کشند و بدون ایجاد اسکار التیام می یابند. هرپس تناسلی چون یک بیماری منتقله از راه جنسی است می تواند مایه سی رسوایی باشد و عواقب سایکولوژیکی در پی داشته باشد که بسیار بیشتر از اثرات فیزیولوژیک آن است. بعضی از درمان های HSV ممکن است شدید باشند و بدون درمان سریع ضد ویروسی عوارض وخیمی در پی داشته باشند. عارضه های تهدید کننده حیات شامل هرپس نوزادی، انسفالیت هرپس و عفونت HSV در بیماران دچار اختلال ایمنی، بیماران سوختگی، شیرخواران و کودکان دچار سوء تغذیه شدید می باشند. هرپس چشمی عود کننده میتواند منجر به اسکار قرنیه و کوری شود (2).

مواد و روش انجام طرح:

در این مطالعه مقطعی تعداد 135 خانم باردار مراجعه کننده به بیمارستانهای 22 بهمن و آریا بررسی شدند. ابتدا پرسشنامه هایی شامل اطلاعات دموگرافیک نظیر نام، نام خانوادگی، سن، تعداد بارداری، تعداد سقط، تعداد شرکای جنسی، شغل، وضعیت تحصیلی و سطح درآمد توسط شرکت کنندگان در مطالعه پر گردید. 5 میلی لیتر خون از آنها گرفته شد. پس از جداسازی سرم توسط سانتریفیوژ، سرم های مذکور به پژوهشکده دانشکده پزشکی شاهین فر انتقال داده شدند و تا زمان آزمایش الایزا در دمای 20- درجه سانتیگراد فریز شدند. پس از تکمیل نمونه گیری، آزمایش بررسی IgG ضد ویروس هرپس سیمپلکس نوع 2 به روش الایزا انجام شد. قبل از شروع آزمایشات میکرو پلیت ها و سرم های فریز شده در دمای اتاق گذاشته شد تا به دمای اتاق برسند سپس به ترتیب مراحل زیر آزمایشات انجام شد:

در هر چاهک پلیت 100 ماکرولیتر محلول سرم رقیق کننده و 500 ماکرولیتر نمونه ی سرم بیماران ریخته شد البته دو چاهک به عنوان کنترل مثبت و منفی، یک چاهک به عنوان blank در نظر گرفته شد.

به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکو باتور قرار داده شد. سپس نمونه ها از انکو باتور خارج شده و چاهک ها خالی شده و ۵ بار با محلول شستشو چاهک ها شسته شد. بعد از آن ۱۰۰ ماکرولیتر آنزیم کونزوگه در هر چاهک ریخته شد. ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه ی انکو باتور قرار داده شد. پس از خروج از انکو باتور ۵ بار با محلول شستشو شسته شده و سپس ۱۰۰ ماکرولیتر سوبسترای آنزیم کونزوگه به آن اضافه شد. سپس ۲۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد و پس از آن ۵۰ ماکرولیتر محلول متوقف کننده در هر چاهک ریخته شد. بعد از

آن نمونه ها در دستگاه گذاشته شدند و نمونه ها توسط calibrated ELISA Microwell Read خوانده شدند. نمونه ها با جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانو متر خوانده شدند. نمونه های خوانده شده را در فرمول گذاشته و براساس جدول زیر خوانده شد :

$$\text{Antibody Index} = (\text{sample O.D.} / \text{cut off serum mean O.D.}) \times 10 \quad (۲)$$

Index	Interpretation
<9	Negative
9-11	Equivocal
>11	Positive

اگر عدد حاصله از فرمول بالا کمتر از 9 بود جواب منفی است، اگر عدد حاصله بین 9 و 11 بود جواب مشکوک است، اگر عدد حاصله بالاتر از 11 بود جواب مثبت است. در تجزیه و تحلیل داده ها از جداول و نمودارهای مناسب مانند توزیع فراوانی داده ها استفاده شده است. در تحلیل داده های با مقیاس اسمی از آزمون کای دو (Pearson Chi-Square) استفاده شده است و در مواردی که بیش از 25٪ فراوانی های مورد انتظار جداول کمتر از 5 بوده است از آزمون دقیق فیشر (Fisher's Exact Test) استفاده شده است. نرم افزار مورد استفاده در این پژوهش SPSS v.21 بوده و سطح معنی داری آزمون ها کمتر از 5٪ در نظر گرفته شده است.

نتایج:

نتایج این تحقیق براساس متغیرهای مورد مطالعه بصورت جداول و نمودارهای آماری گزارش گردید.

جمع		دارد		ندارد		هرپس سیمپکس ویروس نوع 2
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	تعداد بارداری
٪41	55	٪0	0	٪42/3	55	یک مورد
٪36/6	49	٪50	2	٪36/2	47	دومورد
٪14/2	19	٪50	2	٪13/1	17	سه مورد
٪8/2	11	٪0	0	٪8/5	11	چهارمورد یا بیشتر
٪100	134	٪100	4	٪100	130	جمع
Fisher's Exact Test=5/081 p-value=0/074						آماره آزمون (میزان احتمال)

توزیع فراوانی بیماران مورد مطالعه براساس تعداد بارداری

توزیع فراوانی بیماران مورد مطالعه براساس تعداد بارداری

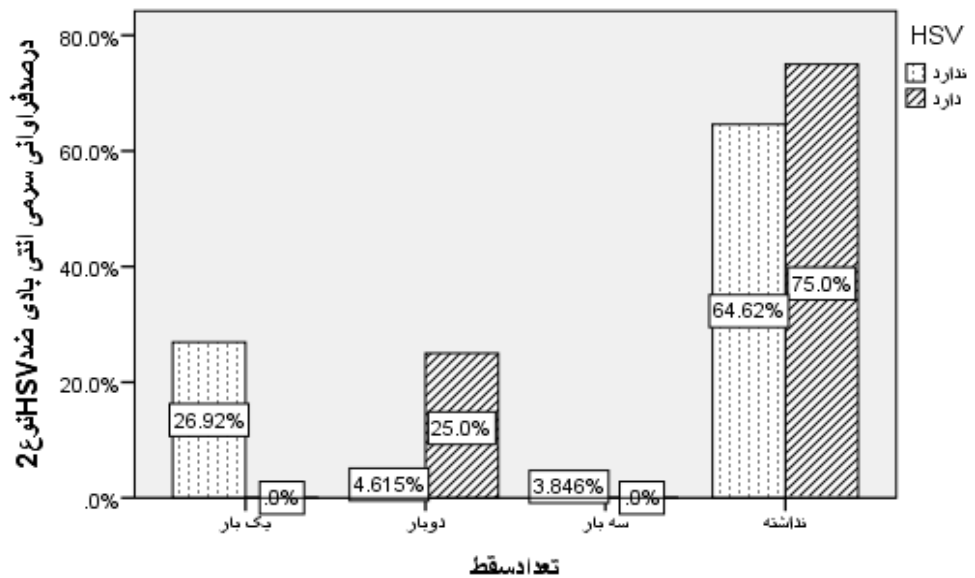
با توجه به جدول $p\text{-value} = 0/074$ میتوان چنین گفت که از لحاظ آماری ارتباط معنی داری بین تعداد

بارداری در بیمار و وجود هرپس سیمپکس ویروس نوع 2 در بیماران وجود ندارد.

توزیع فراوانی بیماران مورد مطالعه براساس تعداد سقط در بیماران

جمع		دارد		ندارد		هرپس سیمپکس ویروس نوع 2
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	تعداد سقط
1/26%	35	0%	0	9/26%	35	یک بار
2/5%	7	25%	1	6/4%	6	دو بار
7/3%	5	0%	0	8/3%	5	سه بار
9/64%	87	75%	3	6/64%	84	نداشته است
100/1%	134	100%	4	100/1%	130	جمع
Fisher's Exact Test=4/135 p-value=0/293						آماره آزمون (میزان احتمال)

با توجه به جدول $p\text{-value}=0/293$ میتوان چنین گفت که از لحاظ آماری ارتباط معنی داری بین تعداد سقط در بیمار و وجود هرپس سیمپکس ویروس نوع 2 در بیماران وجود ندارد.



توزیع فراوانی بیماران مورد مطالعه براساس تعداد سقط

بحث:

در 10 کشور پیشرفته جهان از قبیل ایالات متحده امریکا، کانادا، ژاپن، آلمان، انگلستان، بلژیک، فرانسه، ایتالیا، اسپانیا و استرالیا حدود 107 میلیون نفر از لحاظ سرمی برای HSV-2 مثبت هستند (4). در ایران به دلیل رعایت سلامت خانواده و وضعیت فرهنگی، میزان شیوع این ویروس کم است. در ایران هرپس تناسلی کمتر مورد توجه قرار گرفته است لذا مطالعات محدودی در این زمینه انجام شده است. در سال 1380 در مطالعه ای که روی اهداء کنندگان خون در شهر کرمان انجام شد شیوع این بیماری 2/7٪ گزارش شد (5). در مطالعه ای که در گرگان در سال 1388 انجام شد از بین افراد مراجعه کننده به 10 آزمایشگاه گرگان، به طور تصادفی 406 نفر بررسی شدند که از این بین، 4/9٪ از نظر آنتی بادی HSV-2 مثبت شدند (6). در اصفهان نیز HSV-2 به روش PCR سنجیده شد که 6/09٪ افراد مثبت شدند (7). در این پژوهش فراوانی سرمی این ویروس در بیمارستانهای مورد مطالعه واقع در مشهد 6/2٪ مشاهده گردید.

در اصفهان نمونه های مورد مطالعه مربوط به گروههای سنی 1 ماه تا 65 سال بود. بیشترین میزان آلودگی در بین گروههای سنی زیر یکسال و 19-40 سال دیده شد و کمترین میزان شیوع مربوط به گروههای سنی 18-1 سال و بالای 41 سال بود. این موضوع را می توان به این شکل توجیح کرد که در سن فعال جنسی این ویروس بیشتر دیده می شود (7)

در این مطالعه نیز 100٪ افرادی که مثبت شدند سن بالای 30 سال داشتند.

مطالعه انجام شده در کشور هند در سال 2010 شیوع سرمی HSV-2 در سن بالای 30 سال 22/2٪ بود و در افراد زیر 30 سال این شیوع بسیار کم بود طوری که در افراد زیر 20 سال این شیوع صفر بود. در این مطالعه سطح سرمی مثبت HSV-2 به میزان قابل توجهی به افزایش سن ارتباط داشت (4) در مطالعه ای که در سال 2007 در ایالت متحده انجام شد با افزایش سن سطح سرمی این ویروس افزایش پیدا می کرد (8) در مطالعه ای که در سال 2012 در کشور سوئیس انجام شد ارتباطی بین سن با شیوع سرمی HSV-2 دیده شد (9) در مطالعه ای که در سال 2007 در عربستان انجام شد نشان داد که فراوانی سرمی HSV-2 در مادران مسن تر بیشتر است (10) در مطالعه ای که در سال 2010 در کشور هند انجام شد میزان شیوع سرمی HSV-

2 با تعداد شرکای جنسی ارتباط داشت (4). در این مطالعه از 5 نفر افرادی که تعداد شرکای جنسی متعدد داشتند یک نفر برای HSV-2 مثبت شد که این موضوع بیانگر این است که ارتباطی بین تعداد شرکای جنسی و مثبت شدن HSV-2 وجود دارد، اما به جهت تعداد کم مثبت شده‌ها از لحاظ آماری ارتباط معناداری بین تعداد شرکای جنسی و مثبت شدن HSV-2 وجود ندارد. در مطالعه‌ای که در سال 2007 در عربستان انجام شد شیوع سرمی HSV-2 در میان کارمندان دولت و معلمان نسبت به کارگران و افراد خانه دار بیشتر بود (10). در این پژوهش تمامی افرادی که برای HSV-2 مثبت شدند خانه دار بودند. در مطالعه‌ای که در سال 2011 در کشور هند انجام شد سطح تحصیلات پایین با میزان مثبت شدن HSV-2 ارتباط داشت (11). در این مطالعه تمامی افرادی که از لحاظ HSV-2 مثبت شدند تحصیلات زیر دیپلم داشتند. در این پژوهش بین تعداد سقط، تعداد بارداری و سطح درآمد با مثبت شدن HSV-2 ارتباطی وجود نداشت. در مطالعه‌ای که در سال 2010 در کشور هند انجام شد سطح سرمی HSV-2 با تعداد زایمان و سابقه سقط ارتباط داشت (4). در این مطالعه از 135 نمونه 4 نمونه برای HSV-2 (IgG) که 2/6٪ افراد را شامل می شد مثبت شدند. 100٪ افرادی که مثبت شدند سن بالای 30 سال، شغل خانه دار، تحصیلات زیر دیپلم داشتند که این قضیه ارتباطی را بین سن، شغل و تحصیلات با مثبت شدن HSV-2 نشان می دهد اما به جهت کم بودن تعداد مثبت شده ها ارتباط معناداری از لحاظ آماری بین این متغیرها و HSV-2 پیدا نشد. همچنین با توجه به این که از 135 نفر جامعه ی آماری، فقط 5 نفر تعداد شرکای متعدد جنسی داشتند و از این تعداد، یک نفر مثبت شد این موضوع را به ما گوشزد می کند که تعداد شرکای جنسی متعدد می تواند یکی از عوامل مثبت شدن HSV-2 باشد. در این مطالعه به دلیل تعداد کم افرادی که مثبت شدند ارتباط معناداری از نظر آماری بین تعداد شرکای جنسی و مثبت شدن HSV-2 پیدا نشد.

همچنین در این مطالعه ارتباطی بین تعداد بارداری، تعداد سقط و میزان درآمد با مثبت شدن HSV-2 پیدا نشد که نداشتن ارتباط معنادار از لحاظ آماری با مثبت شدن HSV-2، موید این ادعاست.

نتیجه گیری:

با توجه به دفع بدون علامت ویروس از ناحیه ی تناسلی زنان به ویژه در هنگام زایمان خطر انتقال به نوزاد و متعاقبا ایجاد عفونت های نوزادی وجود دارد. این قضیه ما را به این سمت سوق می دهد که در مادران سرو پوزتیو بدون علامت زایمان سزارین انجام شود.

در افراد سروپوزتیو چون خطر انتقال این ویروس حتی بدون علائم بالینی به شریک جنسی وجود دارد در روابط جنسی نکات بهداشتی از قبیل استفاده از کاندوم رعایت شود تا از شیوع این ویروس جلوگیری شود. چون این ویروس می تواند جنین و نوزاد را به شدت درگیر کند و عواقب بدی را در پی داشته باشد به مادران سرورنگاتیو توصیه می شود به نکات بهداشتی را برای جلوگیری از ابتلا به این ویروس توجه کنند. در مجموع رعایت مسائل اخلاقی و اعتقادی و بهداشتی و همچنین دادن آموزش های بهداشتی مناسب به افراد جامعه، کمک زیادی در جلوگیری از انتشار این ویروس می کند.

References:

1. Schifer J , Lawence C. chapter134. herpes simplex virus.Mandell G,Douglas E,Bennett D.mandell-douglas-and-bennetts Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th.Churchill Livingstone. 2010. 1943-1958.
2. Staberry L .chapter 249 . Herpes simplex virus . Robert M,Kliegman M ,Stanton B,Geme J ,Schor N ,Behrman R. Nelson Textbook of Pediatrics.19th:Saunders.2011.1366-1372.
3. Tnsly R . Chapter172.herpes simplex virus. Corey L.Herpes Simplex Viruse.In: HirschM, Longo D, Thorn G,Braunwald E ,Fauci A,Kasper D , ‘et al”. Harrison’s Principle of Internal Medicine.17th ed.New York:Corey L.2008.1095-1102.
4. Rathore S, Jamwal A, Gupta V. Herpes simplex virus type 2: Seroprevalence in antenatal women. Indian J Sex Transm Disease. 2010;(31):11-15.
5. عرب زاده ع، فکری ع . شیوع سرمی آنتی بادی ویروس هرپس سیمپلکس ویروس نوع 2 در اهدا کنندگان خون در شهر کرمان در سال 1380.مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان . 1381: (شماره 1): 59-53.
6. هدایت مفیدی م، سعیدی م، بهنام پور ن. سرواپیدمیولوژی ویروس هرپس سیمپلکس نوع 2 در شهر گرگان در سال 1385.مجله علوم آزمایشگاهی . 1385: (شماره 2): 19-15.
7. قاسمی دهکردی ب، ممتاز ح، رضائیان ع، یغوبی ر. بررسی مولکولی فراوانی ویروس هرپس سیمپلکس نوع 2 در استانهای اصفهان و چها محال بختیاری در سال 1388.مجله میکروب شناسی پزشکی ایران 1388: (شماره 4): 53-46.
8. Xu F, Markowitz LE, Gottlieb SL, Berman SM. Seroprevalence of herpes simplex virus types 1 and 2 in pregnant women in the United States. Am J Obstet Gynecol. 2007;(196):43.e1-43.
9. Kucera P, Gerber S, Marques-Vidal P, Meylan M. Seroepidemiology of herpes simplex virus type 1 and 2 in pregnant women in Switzerland. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.2012 September;(160):13-17

- 10.**Obeid OE. Prevalence of herpes simplex virus types 1 and 2 and associated sociodemographic variables in pregnant women attending King Fahd Hospital of the university. *J Fam Community Med* . 2007;(14):3-7.
- 11.**Biswas D, Borkakoty B, Mahanta M, Walia K, Saikia L, Akoijam B, ‘et al’’. Seroprevalence and risk factors of herpes simplexvirus type-2 infection among pregnant women inNortheast India. *BMC Infectious Diseases* . 2011; (11) :325.

Abstract

Background:

In many countries, infections due to HSV are as endemic. The number of people who have antibodies against the virus is different and has mainly depended on the studied groups. High prevalence of herpes and its complications, particularly in infants shows that development of strategies to prevent and detect seropositive and seronegative mothers is very important in terms of promoting public health and reducing harm from the infection. On the other hand, infection of asymptomatic individuals who are seropositive increases the importance of epidemiological studies of herpes virus seroprevalence. Considering the importance of the role of epidemiological studies on the health policies, our research is based on the study of seroprevalence of HSV-2 in pregnant women.

Methods:

Blood samples were collected in a cross-sectional study of 135 pregnant women admitted to hospital Arya and 22-bahman in the year 92-93. They also completed questionnaires to assess the effects of seven factors: age, occupation, education, number of pregnancies, abortions, number of sexual partners and income levels. Serum samples were then separated and the presence of IgG to HSV-2 were determined using ELISA kits.

Results:

Of the 135 patients, 4 patients for HSV-2 were positive for the 2/6% population, we make up, and according to the statistical data and the statistical test, the positivity of the age, occupation, level of education, number of pregnancies, abortions, number of sexual partners was not related income.

Conclusion:

In our study, 2/6% of patients were positive for HSV-2 positive. All the people who were older than 30 years, homemaker and graduate education, but due to the

low number of positive results in terms of no statistically significant relationship between age, occupation and education level with HSV-2 was found

Keywords: Herpes simplex virus, Seroprevalence, Pregnant women