Original Article

بررسی و تشخیص ویروس هرپس سیمپلکس دربیماران مشکوک به آنسفالیت، زخم قرنیه و عفونت‌های پوستی با روش Real-Time PCR

نسرین علی آبادی، مرضیه جمالی دوست، صدف عصایی، ماندانا نماینده، مازیار ضیائیان*

مرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی استاد البرزی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۰۴/۲۵ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۰۹/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: خانواده ویروسی هرپس از لحاظ بالینی طیف وسیعی از بیماری‌ها را ایجاد می‌کند. از عفونت‌های معمول HSV، عفونت پوستی و موکوسی است که می‌تواند بر روی صورت، دهان و ناحیه ژنیتال اثر گذار باشد. همچنین این ویروس بر روی چشم و دستگاه عصبی مرکزی (CNS) ایجاد عفونت می‌کند. هدف از این مطالعه ارزیابی وجود یا عدم وجود عفونت هرپس سیمپلکس در افراد مبتلا به عوارض یاد شده به کمک روش Real-Time PCR Taqman می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه بیش از هزار بیمار مشکوک به عفونت HSV به مرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی استاد البرزی (PACMRC) ارجاع داده شدند. استخراج DNA بر روی نمونه‌ها براساس دستور العمل کیت انجام شد و برای همه نمونه‌ها تست Real-Time PCR با استفاده از کیت Primer Design TMgenesig انجام شد.

نتایج: در عفونت‌های مورد بررسی نتایج به‌دست آمده بدین صورت بود که ۴۴ نمونه هرپس سیمپلکس آنسفالیت، ۱۱۸ مورد نمونه HSK مثبت،۲۳ مورد HSV مثبت در بیماران دچار نقص سیستم ایمنی مشکوک به عفونت هرپس سیمپلکس، ۱۳ نفر (۵/۶٪) از بیماران دارای علائم پوستی مشکوک به عفونت هرپس سیمپلکس مثبت و در نهایت ۶۵ مورد از آزمایشات مربوط به بیمار مشکوک به هرپس دهانی مثبت به‌دست آمدند.

نتیجه‌گیری: امروزه، Real – Time TaqMan PCR یک روش تشخیصی ارزشمند در تشخیص ژنوم HSV است. این روش قابل اعتماد، بسیار حساس و اختصاصی می‌باشد. همچنین بار ویروسی به‌دست آمده توسط این روش در یک فرد می‌تواند به عنوان بهترین مارکر در دنبال کردن اثر درمانی به‌کار رود.

کلمات کلیدی: Real-Time PCR، آنسفالیت، کراتیت چشمی، هرپس سیمپلکس ویروس.

مقدمه

عفونت‌های ایجاد شده توسط هرپس سیمپلکس ویروس‌ها، از عفونت‌های معمول در جهان می‌باشد. از لحاظ کلینیکی، هرپس ویروس‌ها طیف وسیعی از بیماری‌ها را ایجاد می‌کنند. از عفونت‌های معمول HSV، عفونت پوستی و موکوسی می‌باشد که می‌تواند برروی صورت، دهان، ناحیه ژنیتال یا قسمت‌های دیگر بدن ایجاد ضایعه کند (۱). همچنین این ویروس ایجاد عفونت و آسیب برروی چشم و دستگاه عصبی مرکزی (CNS) می‌کند (۲). عفونت کراتیت ناشی از هرپس سیمپلکس، یکی از شناخته شده ترین کراتیت‌های ناشی از عفونت‌های ویروسی است و مهم‌ترین عامل نابینایی و عوارض ناشی از آن در کشورهای در حال توسعه می‌باشد. عفونت چشمی، یک عفونت نهفته در بدن است که به طور عمده در عصب گانگلیون سه قلو می‌باشد که این عفونت با تب، تروما و عامل سرکوب کننده سیستم ایمنی و یا با قرار گرفتن در معرض اشعه ماوراء بنفش احیاء (UV) عود می‌کند (۳). شیوع بیماری کراتیت چشمی در ۷/۲۰ تا ۵/۹ موارد در هر ۱۰۰۰۰ نفر در سال تخمین زده شده است. این در حالی است که درمان HSK علی‌رغم وجود روش‌های تشخیصی پیشرفته و اثر قابل توجه داروهای ضد ویروسی مانند آسیکلوویر، برای چشم پزشکان دشوار می‌باشد (۴).

از دیگر عفونت‌های جدی HSV آنسفالیت ناشی از عفونت هرپس سیمپلکس (HSE) است که یکی از علل شایع عفونت ویروسی حاد و شدید پراکنده سیستم عصبی مرکزی انسان می‌باشد (۵، ۶). حدود ۳۰٪ از موارد HSE از عفونت اولیه HSV نتیجه می‌شود، این عفونت عمدتا در افراد کمتر از ۱۸ سال رخ می‌دهد (۷). تقریبا ۵۰٪ از بیماران مبتلا به HSE سن بیش از ۵۰ سال ندارند. عفونت HSE با شیوع ۱ مورد در هر ۵۰۰،۰۰۰ نفر از جمعیت در سال به طور نسبتا غیرعادی رخ می‌دهد (۸). عفونت HSE باعث بیماری شدید و مرگ و میر در افرادی که درمان نمی‌شوند یا به هر دلیلی درمان ضد ویروسی موثر دریافت نمی‌کنند، می‌گردد. در بیمارانی که درمان نشده‌اند بیش از ۷۰٪ مرگ و میر گزارش شده است که تنها ۲۰٪ از بازماندگان به طور کامل بازیابی عملکرد طبیعی مغز خود را به‌دست می‌آورند (۱۰-۸). تشخیص اولیه این عفونت و درمان با آسیکلوویر در کاهش مرگ و میر و بروز عوارض عصبی در بیماران بازمانده قابل توجه است (۸).

ویروس هرپس سیمپلکس همچنین می‌تواند ایجاد عفونت در

* نویسنده مسئول: مازیار ضیائیان، بخش ویروس شناسی مرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی استاد البرزی، بیمارستان نمازی، شیراز، ایران. تلفن: ۰۷۱۱-۶۴۷۴۳۰۴
Email: ziyaeyanm@sums.ac.ir

صورت، نواحی موکوسی، تناسلی و سایر نقاط پوست کند. عفونت ناشی از ویروس هرپس سیمپلکس ممکن است اولیه یا عودکننده باشد (۱۱). HSV علت اصلی عفونت تبخال در دهان و لب می‌باشد که معمولا از طریق تماس‌های معمولی افراد قابل انتقال می‌باشد (۱۲). نوع مخاطی عفونتHSV، HSV تناسلی است که این عفونت از طریق جنسی قابل انتقال است. بزرگترین نگرانی در مورد تبخال تناسلی در دوران بارداری است که مادر ممکن است در طول زایمان آن را به جنین انتقال دهد. هرپس نوزادی نسبتا نادر است، نزدیک به ۱،۵۰۰ نوزاد در هر سال را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۳). بنابراین تشخیص زود هنگام عفونت در جهت کاهش احتمال عفونت در نوزادان بسیار حائز اهمیت می‌باشد. تشخیص به موقع، سریع و قابل اعتماد این عفونت‌ها، به خصوص HSE و HSK برای امنیت جان بیماران بسیار حیاتی می‌باشد (۱۴). امروزه،Real – Time TaqMan PCR یک روش تشخیصی ارزشمند در تشخیص ژنوم HSV است. این روش قابل اعتماد، بسیارحساس و اختصاصی می‌باشد که با مشخص کردن بار ویروسی در یک فرد می‌تواند به عنوان بهترین مارکر در تعیین اثر درمانی به‌کار رود (۱۵، ۱۶). هدف از این مطالعه ارزیابی Real-Time PCR در تشخیص و نظارت بر بیماران مبتلا به عفونت مشکوک HSV می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری: در این مطالعه ۱۵۶۶ بیمار مشکوک به عفونت HSV به مرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی استاد البرزی (PACMRC) ارجاع داده شدند. این بیماران به ۴ گروه دسته بندی شدند: گروه اول شامل نمونه‌هایی مشکوک به کراتیت چشمی بودند که واجد علائمی چون قرمزی (عمدتا در اطراف قرنیه) و درد در چشم، آبریزش چشم و تاری دید بودند که نمونه‌های تهیه شده از آن‌ها شامل تراشه‌های اپی تلیال قرنیه و مایع زلالیه بود. گروه دوم شامل نمونه‌های CSF گرفته شده از بیماران مشکوک به آنسفالیت هرپس ویروس با علائمی نظیر تغییر سطح هوشیاری، تب، عدم تعادل و تشنج بودند. سومین گروه نمونه‌ها، پلاسمای افراد دچار نقص ایمنی و در نهایت آخرین گروه را بیمارانی تشکیل دادند که دارای زخم، وزیکول و عوارض پوستی در بخش‌های مختلف بدنشان بودند. این نمونه‌ها حداکثر در فاصله زمانی ۶ ساعت با رعایت زنجیره سرد به این مرکز منتقل شده و در فریزر ۷۰ درجه سانتی گراد تا انجام استخراج ژنوم ویروسی نگهداری شدند. مطالعه مورد نظر در کمیته اخلاقی مرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی استاد البرزی بررسی و مورد تایید قرار گرفت. رضایت آگاهانه از شرکت کنندگان یا قیم قانونی آن‌ها به‌دست آمد.

اصول کاربرد آمار زیستی: گروه‌های مختلف سنی و جنسی در این مطالعه با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۱۶ نرم افزار SPSS، شیکاگو، ایلینویز) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

استخراج DNA: استخراج DNA از ۲۰۰ میکرولیتر CSF، پلاسما و محلول ترانسپورت حاوی سوآپ نمونه بیمار مشکوک، با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده (Invisorb Spin Virus DNA Mini Kit, Germany) انجام شد.

Real-Time PCR: تست Real-Time PCR با استفاده از کیت Primer Design TM genesig برای تعیین بار ویروس هرپس سیمپلکس انجام شد. به طور خلاصه پارامترهای مورد استفاده در این روش شامل: ۵ میکرولیتر از DNA با غلظت ۲۰ پیکومول استخراج شده از هر نمونه، و ۱ میکرولیتر پرایمر و پروب با غلظت ۱۰ پیکومول پرایمر، ۵ پیکومول پروب به مخلوط 1x TaqMan(Applied Bi-systems, Branchburg, New Jersey, USA) اضافه شد.حجم نهایی واکنش Real-Time PCR، ۲۰ میکرولتر بود. شرایط دمایی واکنش به این صورت بود که ۱۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتیگراد، ۱۵ ثانیه در ۹۵ درجه سانتیگراد و ۱ دقیقه در ۶۰ درجه سانتیگراد در ۴۵ چرخه توسط دستگاه Applied Biosystem ۵۷۰۰ انجام شد. کنترل مثبت و منفی در هر آزمایش PCR مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

در این مطالعه، ۱۵۶۶ بیمار مشکوک به عفونت هرپس ویروس از شهریور ۱۳۸۹ تا شهریور ۱۳۹۱ جمع آوری شد. این نمونه‌ها شامل ۴۰۷ (۲۵/۶٪) بیمار مشکوک به HSK، ۷۹۱ (۵۰/۲۴٪) بیمار مشکوک به HSE، ۱۹۶ (۱۲/۴۲٪) بیمار سیستمیک مشکوک به عفونت هرپسی، ۱۴۳ (۹/۸۴٪) نمونه دهانی و ۲۹ (۱/۹٪) نمونه‌های پوستی بودند.

بیماران هرپس سیمپلکس آنسفالیت بیشترین فراوانی را در بین بیماران مورد مطالعه داشتند. این گروه شامل ۳۰۱ (۳۸/۴) زن و ۴۹۰ (۶۱/۶ ٪) مرد بود. نتایج نشان داد که ۴۴ نمونه واجد ژنوم HSV بودند. از ۴۴ نمونه مثبت، ۲۱ نمونه (۴۷/۷ ٪) مرد و ۲۳ نمونه (۵۲/۳ ٪) زن بود. از نظر محدوده سنی ۱۲ (۲۹/۳٪) مورد از ۴۴ نمونه زیر ۱۵ سال و ۳۲(۷۰/۷ ٪) مورد بالای ۱۵ سال به‌دست آمد. از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های مثبت و منفی و گروه‌های سنی وجود نداشت ($P<0.05$).

شایع‌ترین عفونت بعد از عفونت آنسفالیت در این مطالعه عفونت HSK در ۱۵۳ (۳۷/۶٪) زن و ۲۵۴ (۶۲/۴٪) بود. نتایج آزمایشات انجام شده برای بیماران مشکوک به این عفونت ۱۱۸ نمونه مثبت را نشان داد. از ۱۱۸ مورد مثبت، ۸۳ نفر (۷۰/۱٪) مرد و ۳۵ (۲۹/۹) زن بودند که ۶ نفر از این ۱۱۸ نفر زیر ۱۵ سال و بقیه ۱۱۲ نفر بالاتر از ۱۵ سال بودند. بین نمونه‌های مثبت و منفی و گروه‌های سنی از نظر سن و جنس تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($P<0.001$).

بیماران دچار نقص سیستم ایمنی مشکوک به عفونت هرپس سیمپلکس شامل ۹۳ مورد (۴۸/۲ ٪) زن و ۱۰۳ (۵۱/۸ ٪) مرد بودند. در ۲۳ مورد از نمونه‌ها عفونت نشان داده شد. از ۲۳ مورد مثبت، ۱۴ بیمار (۶۳/۶ ٪) مرد و ۹ بیمار (۳۶/۴ ٪) زن بود. ۱۸ بیمار زیر ۱۵ سال و ۵ بیمار بالای ۱۵ سال داشتند. تفاوت در نمونه‌های مثبت و منفی بین گروه‌ها از نظر سن و جنس از لحاظ آماری به‌دست نیامد.

بیماران دارای علائم پوستی مشکوک به عفونت هرپس سیمپلکس شامل ۱۱ (۳۷/۹ ٪) زن و ۱۸ (۶۲/۱ ٪) مرد بود. نتایج مربوط به ۱۳ نفر (۵/۶٪) از بیماران مثبت به‌دست آمد که از این تعداد ۷ نفر (۵۳/۸٪) مرد و ۶ نفر (۴۶/۲) زن بودند. در محدوده گروه سنی ۸ نفر از بیماران زیر ۱۵ سال و بقیه بیماران بیش از ۱۵ سال سن داشتند.

همچنین از ۱۴۳ بیمار مشکوک به هرپس دهانی ۶۵ مورد از آزمایشات مربوط مثبت به‌دست آمد. در میان ۶۵ بیمار مثبت، ۱۸ بیمار زیر ۱۵ سال و ۴۷ بیمار بالای ۱۵ سال بودند. بین گروه‌ها از لحاظ جنس و سن تفاوت معنا داری از لحاظ آماری مشاهده نشد (P<0.05).

بحث و نتیجه‌گیری

یک راه تشخیصی برای عفونت HSV، استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرازی (PCR) است که این روش به طور گسترده‌ای در کلینیک‌ها و آزمایشگاه‌ها استفاده می‌شود (۱۷). در میان روش‌های PCR ،Real Time TaqMan PCR دارای مزایای چون سرعت، دقت و کمیت می‌باشد (۱۹،۱۸). اخیرا Real – Time TaqMan PCR به عنوان یک ابزار مفید در زمینه ویروس شناسی بالینی در تشخیص ژنوم ویروس HSV به‌کار می‌رود. در این مطالعه، با استفاده از این روش بیماران مشکوک به عفونت‌های هرپس ویروس‌ها مورد بررسی قرار گرفتند (۲۰).

در مرحله اول فراوانی بیماران مشکوک به عفونت هرپسی که به مرکز میکروب شناسی بالینی استاد البرزی مراجعه کرده بودند تعیین شد. در این مطالعه بیش از نیمی از بیماران مشکوک به عفونت HSE بودند و بقیه بیماران مشکوک به HSK و دیگر عفونت‌های مربوط به این ویروس بودند.

عفونت HSE یکی از مهم‌ترین عفونت‌های مورد بررسی در این مطالعه بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده، از ۴۴ نمونه مثبت، ۲۱ نفر (۴۷/۷ ٪) مرد و ۲۳ نفر (۵۲/۳ ٪) زن بودند. تفاوت قابل توجهی بین زنان و مردان در ابتلاء به عفونت HSE وجود ندارد. در مطالعات قبلی که از آذر۱۳۸۴ تا ماه مهر ۱۳۸۷ انجام شده بود، نشان داده شد ژنوم ویروس هرپس سیمپلکس در کل نمونه‌های مورد بررسی که شامل ۲۳۶ بیمار مشکوک بود در ۲۲ نفر (۹/۳٪) ردیابی شد، که شامل ۱۳ مرد و ۹ نفر زن بودند. در این مطالعه هیچ نتیجه منفی کاذب به‌دست نیامد و نشان داده شد که می‌توان از این تست به عنوان یک ابزار با ارزش در تشخیص عفونت استفاده کرد (۲۱). همچنین افزایش تعداد بیماران مشکوک به عفونت HSE در دو دوره مورد مطالعه (از آذر۱۳۸۴ تا ماه مهر۱۳۸۷و شهریور ۱۳۸۸تا آبان ۱۳۹۱) نشان داد که Real-time PCR یک روش تشخیصی سریع، به موقع، حساس و مورد نیاز برای تشخیص عفونت ویروس هرپس سیمپلکس است که بسیار حائز اهمیت می‌باشد.

تشخیص سریع و به موقع کراتیت چشمی، عامل کوری عفونی، می‌تواند بسیار مفید و ارزشمند باشد. همچنین تشخیص کمی HSV DNA در زخم هرپس می‌تواند در ارزیابی اثر درمان ضد ویروسی حائز اهمیت باشد. از بیماران مشکوک به HSK، در ۲۶/۸٪ از این بیماران ژنوم HSV ردیابی شد. ۶/۱٪ از بیماران مثبت زیر ۱۵ سال سن داشتند و دیگر بیماران (۹۳/۹٪) بیش از ۱۵ سال سن داشتند. نتایج نشان داد که ژنوم HSV در عفونت چشم با سن بیماران در ارتباط است و همبستگی بین این دو گروه (به عنوان مثال، گروه کمتر از ۱۵ و گروه بالاتر از ۱۵ سال) وجود دارد. اگر چه تعداد کودکان مبتلا به کراتیت چشمی کم است، اما آن‌ها در معرض خطر عود مجدد و تهدیدات ناشی از آن هستند و ممکن است برای کمک به جلوگیری از چنین عواقبی، درمان‌های سیستمیک ضد ویروسی برای این کودکان تجویز شود. در سال ۲۰۱۲، نتایج مشابهی به دست آمد که نشان می‌داد که سن بیماران مبتلا به زخم قرنیه هرپسی، با میزان بار ویروس می‌تواند ارتباط داشته باشد (۲۲). این نتایج نشان می‌دهد که HSK یکی از بیماری اپیدمیولوژیکی چشمی مهم است. بهتر است برای نظارت بر بیماری هرپس چشمی از روش Real-Time PCR به علت حساسیت بالای آن برای تشخیص کمی و کیفی هرپس زخم قرنیه استفاده کرد، همچنین این روش می‌تواند در تشخیص بالینی و تصمیم‌گیری درمانی مفید باشد (۲۴).

هرپس سیمپلکس ویروس یکی از شایع‌ترین عفونت‌های پوست و دهان می‌باشد. در میان ۲۹ مورد از عفونت‌های پوستی شناسایی شده، ۱۳ نفر (۵/۶٪) بیمار مبتلا به عفونت HSV پوستی تشخیص داده شد که ۸ نفر از این افراد زیر ۱۵ سال بودند و دیگر افراد بیش از ۱۵ سال سن داشتند. در بیماران دارای علائم مشکوک به هرپس دهانی، از ۱۹۶ بیمار گفته شده ۳۰ نفر (۴۷/۶٪) زن و ۳۵ (۵۲/۴٪) نفر مرد مثبت به‌دست آمد که از ۶۵ بیمار مثبت، ۱۸ نفر از بیماران زیر ۱۵ سال و ۴۷ نفر بیش از ۱۵ سال سن داشتند. با توجه به آمار به‌دست آمده در این مطالعه تشخیص زود و به‌هنگام این عفونت به خصوص در بیماران مشکوک به آنسفالیت اهمیت به‌سزایی دارد و نیز در بیمارانی که تحت پیوند عضو هستند، تشخیص صحیح و سریع این ویروس حائز اهمیت بالایی است. در بین روش‌های تشخیص HSV همچون کشت سلول، انواع روش‌های معمول Real-Time PCR، PCR بسیار حساس‌تر و دقیق‌تر می‌باشد (۲۲،۲۱). از ۱۹۶ نمونه، ۲۳ نفر (۱۱/۷٪) مثبت بودند، از این تعداد ۱۸ نفر زیر ۱۵ و ۵ نفر بیش از ۱۵ سال بودند. نتایج آماری نشان داد که در نمونه‌های مثبت و منفی تفاوت معنی‌داری از نظر آماری بین گروه‌ها (از نظر سن و جنس) (P<0.05) وجود ندارد.

بررسی انواع مختلف عفونت هرپسی در این مطالعه اهمیت تشخیصی این عفونت را نشان داد. می‌توان پیشنهاد کرد که Real-time PCR یک روش قابل اعتماد، بسیار حساس و اختصاصی می‌باشد. همچنین تعیین بار ویروسی هرپس سیمپلکس به عنوان بهترین فاکتور اثر بخشی درمانی در افراد مبتلا به این عفونت مطرح می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی استاد البرزی دانشگاه علوم پزشکی شیراز است.

References

1. Whitley RJ, Roizman B. Herpes simplex virus infections. Lancet. 2001; 357(9267): 1513-8.
2. Whitley RJ. Herpes simplex encephalitis: adolescents and adults. Antiviral Res. 2006; 71(2-3): 141-8.
3. Hsiao CH, Yeung L, Yeh LK, Kao LY, Tan HY, Wang NK, et al. Pediatric herpes simplex virus keratitis. Cornea. 2009;

28(3): 249-53.
4. Hamrah P, Pavan-Langston D, Dana R. Herpes simplex keratitis and dendritic cells at the crossroads: lessons from the past and a view into the future. Int Ophthalmol Clin. 2009; 49(1): 53-62.
5. Domingues RB, Fink MC, Tsanaclis AM, de Castro CC, Cerri GG, Mayo MS, et al. Diagnosis of herpes simplex encephalitis by magnetic resonance imaging and polymerase chain reaction assay of cerebrospinal fluid. J Neurol Sci.1998; 157(2): 148-53.
6. Tyler KL. Herpes simplex virus infections of the central nervous system: encephalitis and meningitis, including Mollaret's. Herpes. 2004; 11 (2): 57-64.
7. Kimberlin D. Herpes simplex virus, meningitis and encephalitis in neonates. Herpes. 2004; 11 (2): 65-76.
8. Rowley AH, Whitley RJ, Lakeman FD, Wolinsky SM. Rapid detection of herpes-simplex-virus DNA in cerebrospinal fluid of patients with herpes simplex encephalitis. Lancet. 1990; 335(8687): 440-1.
9. Lakeman FD, Whitley RJ. Diagnosis of herpes simplex encephalitis: application of polymerase chain reaction to cerebrospinal fluid from brain-biopsied patients and correlation with disease. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral Study Group. J Infect Dis. 1995; 171(4): 857-63.
10. Revello MG, Baldanti F, Sarasini A, Zella D, Zavattoni M, Gerna G. Quantitation of herpes simplex virus DNA in cerebrospinal fluid of patients with herpes simplex encephalitis by the polymerase chain reaction. Clin Diagn Virol. 1997; 7(3): 183-91.
11. Carr DJ, Tomanek L. Herpes simplex virus and the chemokines that mediate the inflammation. Curr Top Microbiol Immunol. 2006;303: 47-65.
12. MasCasullo V, Fam E, Keller MJ, Herold BC. Role of mucosal immunity in preventing genital herpes infection. Viral Immunol. 2005; 18(4): 595-606.
13. Alberts CJ, Schim van der Loeff MF, Papenfuss MR, da Silva RJ, Villa LL, Lazcano-Ponce E, et al. Association of Chlamydia trachomatis Infection and Herpes Simplex Virus Type 2 Serostatus With Genital Human Papillomavirus Infection in Men: The HPV in Men Study. Sex Transm Dis. 2013; 40(6): 508-515.
14. Bruisten SM. Genital ulcers in women. Curr Womens Health Rep. 2003; 3(4): 288-98.
15. Schloss L, Falk KI, Skoog E, Brytting M, Linde A, Aurelius E. Monitoring of herpes simplex virus DNA types 1 and 2 viral load in cerebrospinal fluid by real-time PCR in patients with herpes simplex encephalitis. J Med Virol. 2009; 81(8): 1432-7.
16. Domingues RB, Lakeman FD, Mayo MS, Whitley RJ. Application of competitive PCR to cerebrospinal fluid samples from patients with herpes simplex encephalitis. J Clin Microbiol. 1998; 36(8): 2229-34.
17. Domingues RB, Fink MC, Tsanaclis AM, De Castro CC, Cerri GG, Mayo MS, et al. Diagnosis of herpes simplex encephalitis by magnetic resonance imaging and polymerase chain reaction assay of cerebrospinal fluid. J Neurol Sci. 1998; 157(2): 148-53.
18. Kakimaru-Hasegawa A, Kuo CH, Komatsu N, Komatsu K, Miyazaki D, Inoue Y. Clinical application of real-time polymerase chain reaction for diagnosis of herpetic diseases of the anterior segment of the eye. Jpn J Ophthalmol. 2008; 52(1): 24-31.
19. Hjalmarsson A, Granath F, Forsgren M, Brytting M, Blomqvist P, Sköldenberg B. Prognostic value of intrathecal antibody production and DNA viral load in cerebrospinal fluid of patients with herpes simplex encephalitis. J Neurol. 2009; 256(8): 1243-51.
20. Boivin G. Diagnosis of herpesvirus infections of the central nervous system. Herpes. 2004; 11 (2): 48-56.
21. Ziyaeyan M, Alborzi A, Borhani Haghighi A, Jamalidoust M, Moeini M, Pourabbas B. Diagnosis and quantitative detection of HSV DNA in samples from patients with suspected herpes simplex encephalitis. Braz J Infect Dis. 2011. 15(3): 211-4.
22. 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.
23. Hill JM, Clement C. Herpes simplex virus type 1 DNA in human corneas: what are the virological and clinical implications? J Infect Dis. 2009; 200(1): 1-4.
24. Kaye S, Choudhary A. Herpes simplex keratitis. Prog Retin Eye Res. 2006; 25(4): 355-80.

Original Article

Analysis of Herpes Simplex Virus in Suspected Encephalitis, Keratitis and Dermal Infections Using Real- Time PCR

Aliabadi N, Jamalidoust M, Asaei S, Namayandeh M, Ziyaeyan M*

Professor Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Namazi Hospital, Shiraz, Iran.

Received: 16 Jul 2013 Accepted: 04 Dec 2013

Abstract

Background & Objective: Herpes viruses can cause diseases in the clinical range. The virus can cause infection in various body parts, especially eyes and nervous system. The aim of this study was at evaluating the Real-Time TaqMan probe PCR in diagnosing and monitoring of the patients with suspected HSV infections.

Materials & Methods: More than a thousand patients with suspected HSV infections were collected. The samples were analyzed by Real-time PCR assays. DNA was extracted according to manufacturer's instruction (Invisorb Spin Virus DNA mini Kit, Germany). The Real-Time PCR assay was performed with the primer Design TM genesis for herpes simplex virus (Primer Design, UK).

Results: Total of 44 (5.6%), 118 (26.8%), 23(11.7%), 13 (5.6 %) and 65(45.5%) patients out of herpes simplex encephalitis suspected group, HSK suspected, patients with suspected systemic HSV infection, HSV skin suspected ones and oropharyngeal HSV infection suspected patients respectively were found to be positive by Real-time PCR assays..

Conclusion: As indicated by the results, Real-time PCR assay, with high sensitivity and specificity, can help in early diagnosis. The viral load obtained by this method, can be the best marker in a person for following the therapeutic effect.

Keywords: ***Herpes simplex*** **virus, encephalitis, keratitis, real-time. PCR.**

*** Corresponding author:Ziyaeyan Mazyar,** Department of Virology, Prof. Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Shiraz university of Medical sciences, Namazi Hospital.
Tel: +98 711 6474304
Email: ziyaeyanm@sums.ac.ir