مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۱، شماره ۶، بهمن و اسفند ۱۳۹۲
صفحه: ۸۳۰-۸۲۳

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 21, No. 6, Jan-Feb 2014
Pages: 823-830

بررسی فراوانی نسبی آلودگی به ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۱و۲ در سرم بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس از طریق روش تکثیر هم دما به واسطه حلقه (LAMP)

عارف عاطفی[۱]، محمد حسن شاه حسینی*[۲]، سید کاظم بیدکی[۳]، رضا منصوری[۴]، فریبا بینش[۵]، عاطفه عاطفی[۶]، مهدیه واسعی[۷]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
۲- دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر قدس، تهران، ایران
۳- استادیار گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
۴- استادیار گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران
۵- دانشیار گروه پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران
۶- کارشناس گروه پرستاری، مدیر انجمن ام اس قمر بنی هاشم، بیمارستان شهید صدوقی، یزد، ایران
۷- کارشناس علوم آزمایشگاهی، بیمارستان شهید صدوقی، یزد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۱۴

چکیده

مقدمه: مولتیپل اسکلروزیس یک بیماری التهابی سیستم عصبی مرکزی است. این بیماری ماهیت خود ایمن داشته و هنوز عامل ایجادکننده آن دقیقاً مشخص نیست و از عواملی چون ژنتیک، منطقه جغرافیایی و ویروس نامبرده می‌شود. از جمله عوامل ویروسی که شاید در ایجاد این بیماری نقش داشته باشد، ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۱و۲ است. هدف این مطالعه، استفاده از روش جدید تکثیر هم دما به واسطه حلقه (LAMP) جهت بررسی آلودگی ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۱و۲ در نمونه سرم بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس و شاهدهای سالم است.

روش بررسی: این مطالعه توصیفی از نوع مقطعی آنالیتیکال، بر روی ۵۰ مورد بیمار مولتیپل اسکلروزیس و ۵۰ مورد شاهد سالم صورت گرفت. بررسی آلودگی به ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۱و۲ توسط روش جدیدLAMP مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: حساسیت این روش تا ۵ ذره ویروس و ویژگی آن برای HSV، ۱۰۰٪ بود. از ۵۰ نمونه افراد مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس، ۱۱ نمونه HSV مثبت بودند (۲۲٪)، در حالی که در نمونه‌های گروه شاهد هیچگونه آلودگی به ویروس هرپس سیمپلکس یافت نشد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان می دهد که روش LAMP دارای ویژگی و حساسیت بالایی جهت تشخیص ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۱و۲ در نمونه سرم بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس و گروه شاهد دارا می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: مولتیپل اسکلروزیس، ویروس هرپس سیمپلکس، روش تکثیر هم دما

* (نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۲۳۳۰۴۰۶۹، پست الکترونیکی: shahhosseiny@yahoo.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-26]

مقدمه

مولتیپل اسکلروزیس (Multiple Sclerosis) یک بیماری التهابی مربوط به دستگاه عصبی مرکزی است که طی آن غلاف میلین اطراف فیبرهای عصبی مرکزی آسیب می‌بیند و باعث قطع یا گسیختگی جریان‌های عصبانی می‌گردد. مولتیپل اسکلروزیس می‌تواند ماده سفید مغز، نخاع و عصب بینایی را درگیر کند(۱). مولتیپل اسکلروزیس یک بیماری خود ایمن (Auto immune) است که عامل ایجاد کننده آن کاملاً مشخص نیست و از عواملی چون ژنتیک، منطقه جغرافیایی، نژاد و ویروس نامبرده می‌شود(۱).

از جمله عوامل عفونی که شاید با این بیماری ارتباط داشته باشد، ویروس هرپس سیمپلکس است. ویروس هرپس سیمپلکس (تیپ ۱و۲) از دسته ویروس‌های عصب گرا است و این ویروس از طریق تماس با موکوس و یا پوست صدمه دیده، سرایت می‌کند و سپس توسط نورون‌ها به ریشه پشتی گانگلیون منتقل شده و در آنجا مستقر می‌گردد(۲). این ویروس می‌تواند به طور خود به خود یا به دنبال فشارهای هیجانی، فشارهای فیزیکی و یا ضعف سیستم ایمنی فعال شود(۳). روش های تشخیصHSV به دو دسته ۱) روش‌های کلاسیک و ۲) روش‌های مولکولی قابل تقسیم بندی است. روش‌های کلاسیک تشخیص، شامل روش‌های مورفولوژیک، ایمنومورفولوژیک، سرولوژیک و ویرولوژیک می‌باشد(۴). از ساده‌ترین راه‌های تشخیص این ویروس می‌توان به روش تهیه نمونه از قاعده ضایعات پوستی (Tzanck test) و همچنین روش مشاهده با میکروسکوپ الکترونی اشاره کرد. روش تشخیصی مرجع دیگر، کشت ویروسHSV (روی محیط کشت Vero) می‌باشد(۵). روش‌های تشخیص سرولوژیک، بر مبنای شناخت آنتی بادی‌های IgG1 یا IgG2 علیه ویروس می‌باشد(۶). از معایب این روش‌های تشخیصی می‌توان به زمان بر بودن، عدم قابلیت تشخیص در مراحل اولیه بیماری و همچنین احتمال به دست آمدن جواب‌های مثبت و یا منفی کاذب، اشاره کرد. بنابراین استفاده از روش‌های تشخیص مولکولی ضرورت بیشتری می‌یابد(۷).

روش‌های تشخیص مولکولی بر مبنای جداسازی و تکثیر اسیدهای نوکلئیک ویروس شامل واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)، تکثیر هم دما (Isothermal Amplification) و دورگه‌سازی (Hybridization) است که حتی در مراحل اولیه آلودگی قادر به تشخیص دقیق عامل بیماری‌زا می‌باشند(۸،۹). روش‌های تکثیر مولکولی، علی‌رغم داشتن مزایای زیاد دارای اشکالاتی نیز می‌باشند، به عنوان مثال استفاده از روش PCR، با وجود دقت بالا به علت نیاز به تجهیزات گرانقیمت مثل ترموسایکلر به صورت عمومی در مراکز تشخیصی استفاده نمی‌شود(۸،۱۰). در روش‌های تشخیص مولکولی که در آن تکثیر به صورت هم دما صورت می‌گیرد، نیاز به استفاده از ترموسایکلر نیست.

در سال ۲۰۰۰ میلادی، Notomi روش تکثیر هم دما به واسطه حلقه (LAMP) را ابداع و معرفی کرد. در این روش از ۶ پرایمر ویژه تحت عنوان پرایمرهای داخلی FIP وBIP، پرایمرهای خارجیF3 وB3 و پرایمرهای ویژه لوپ LB وLF با ویژگی بالا استفاده می‌شود. با طراحی الیگونوکلئوتیدهای پروب ویژه این ساختارها، می‌توان از این الیگونوکلئوتیدها در دورگه سازی استفاده کرد که در این صورت به دناتوراسیون با گرما بعد از تکثیر نیازی نیست و نشان‌دهنده این است که تمام مراحل از تکثیر تا تشخیص در یک دما انجام می‌شوند. محصولات نهایی DNAهای ساقه ـ حلقه با چندین توالی معکوس از DNA هدف و ساختارهای شبیه گل کلم با حلقه‌های چندتایی می‌باشند (۱۳-۱۱).

در روش LAMP می‌توان از روی کدورت ایجاد شده در اثر تولید یون پیروفسفات، الکتروفورز محصول و یا از طریق اضافه نمودن سایبر گرین، از نتیجه واکنش مطلع شد.

در سال‌های اخیر چند مطالعه در ارتباط با کاربرد این روش در تشخیص ویروس HSV صورت گرفته است(۱۷-۱۴). هدف این مطالعه، استفاده از روش جدید تکثیر هم دما به واسطه حلقه جهت بررسی آلودگی HSV تیپ ۱ و ۲ در نمونه سرم بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس و شاهدهای سالم است.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-26]

روش بررسی

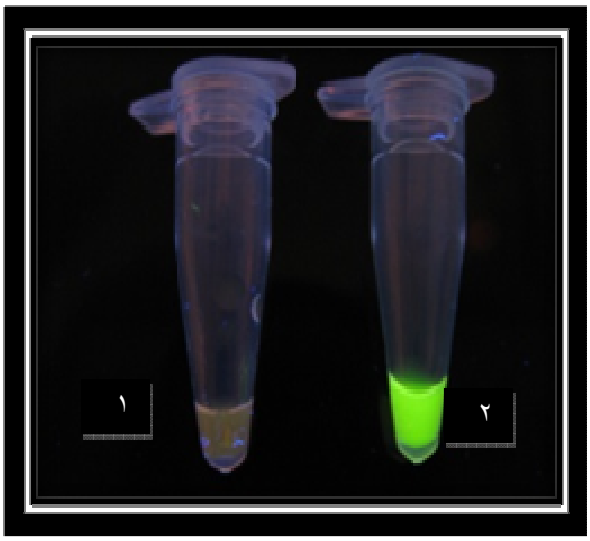
در این مطالعه که به صورت توصیفی از نوع مقطعی ـ آنالیتیکال بود، در سال ۱۳۹۱ انجام پذیرفت. با توان ۸۰٪ و سطح اطمینان ۰/۰۵ حجم نمونه‌ها مشخص شد. معیار ورود افراد به مطالعه، ابتلا به مولتیپل اسکلروزیس (بر حسب کرایترهای مک دونالد) و داشتن پرونده در درمانگاه ام اس بیمارستان شهید صدوقی یزد بود. نمونه‌ها برحسب شماره پرونده در درمانگاه ام اس و استفاده از جدول اعداد تصادفی، انتخاب شدند. نمونه‌گیری از ۵۰ مورد مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس (شامل ۲۰ مرد و ۳۰ زن و میانگین سنی ۱۰/۶±۳۲/۷) و ۵۰ مورد شاهد سالم (شامل ۲۰ مرد و ۳۰ زن و میانگین سنی ۸/۷±۳۰/۵) انجام شد. پس از جداسازی سرم‌ها به آزمایشگاه مؤسسه ایرانیان ژن فناور جهت انجام تست LAMP منتقل شد. استخراج DNA نمونه‌ها، به وسیله کیت DNP (سیناکلون/ ایران) و منطبق با دستورالعمل کیت انجام گردید. DNAهای جداسازی شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام تست LAMP نگهداری شدند. پرایمرهای LAMP با کمک نرم‌افزار Primer explorer V4 بر اساس ژن DNA پلیمراز ویروسHSV که بین تیپ ۱و۲ این ویروس مشترک می‌باشد، طراحی گردید(جدول۱).

جدول ۱: پرایمرهای ویژه تستLAMP بر حسب ژن DNA پلیمراز ویروس HSV (AccessionNumber.AB231460.1)

F3	TTC-TGG-AAT-TCG-ACA-GCG-A-
B3	GGA-AGT-GGC-TCT-GGC-CTA-T
FIP	F2: CGA-GAT-GCT-GTT-GGC-CTT-C
	F1C: TGT-ACC-CGG-TCA-CGA-ACT-CGG
BIP	B2: GTC-CCA-CAC-GCG-AAA-CAC
	B1C: -ACG-GAC-ATT-TAC-AAG-GTC
LF	CCG-TAC-TGT-TTC-ACA-AGG-GTC
LB	GTA-CGG-CCG-CAT-GAA-CG

جهت اپتیمایز کردن آزمون LAMP، تست‌هایی برای تعیین دمای اپتیمم، غلظت MgSo4، غلظت پرایمرها، غلظت بتائین، غلظت dNTP، غلظت بافر، غلظت آنزیم Bst، غلظتDNA الگو و زمان مناسب انجام گرفت. برای تعیین حساسیت تست LAMP، رقت‌های مختلف DNAی ویروسHSV از یک میلیون تا ۵ ذره ویروس به روش سریال تهیه و مورد بررسی قرار گرفت و برای تأیید ویژگی روش بهینه شده، DNAهای هرپس سیمپلکس ویروس، سایتومگالو ویروس، واریسلا زوستر، ویروس هپاتیت B، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، ساکارومایسس سرویزیه، DNA انسان، cDNA ویروس HCV و نمونه کنترل منفی مورد بررسی قرار گرفتند.

تست LAMP برای تمامی نمونه‌های گروه بیمار و گروه شاهد انجام شد. در این مرحله از کار، برای اطمینان از صحت جواب واکنش، در هر بار انجام تست یک نمونه کنترل منفی و یک نمونه کنترل مثبت نیز آزمایش شدند. جهت بررسی نتیجه تست LAMP به هر لوله، مقدار ۱µl از سایبرگرین۱ ۰/۱٪ به لوله واکنش اضافه شد و در زیر نور UV دستگاه ترانس لومیناتور مشاهده گردید. لوله‌های مثبت به رنگ سبز و لوله‌های منفی به رنگ نارنجی خیلی کم رنگ دیده شدند(شکل۱). نتایج این تحقیق به وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و با استفاده از آزمون (Fisher's Exact test) در دو گروه شاهد و مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس مورد مقایسه قرار گرفت.



شکل ۱: نتایج تست LAMP
۱: تست منفی ۲: تست مثبت

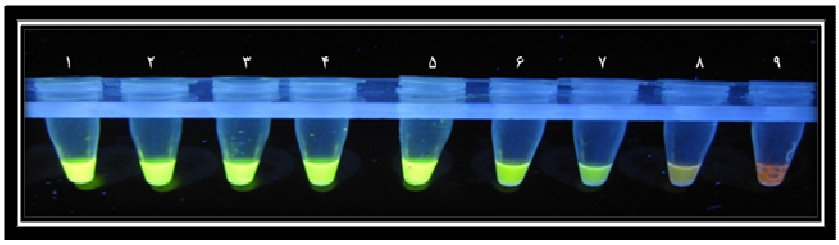
[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-26]

نتایج

نتایج اپتیمایز شده اجزای تست LAMP در جدول ۲ آورده شده است. حساسیت روش LAMP تا ۵ ذره ویروس تعیین شد (شکل ۲) و تست LAMP برای HSV، دارای ویژگی ۱۰۰٪ بود و بقیه تست‌هایی که با سایر ویروس‌ها و نمونه‌های کنترلی انجام شد، منفی بود (شکل ۳).

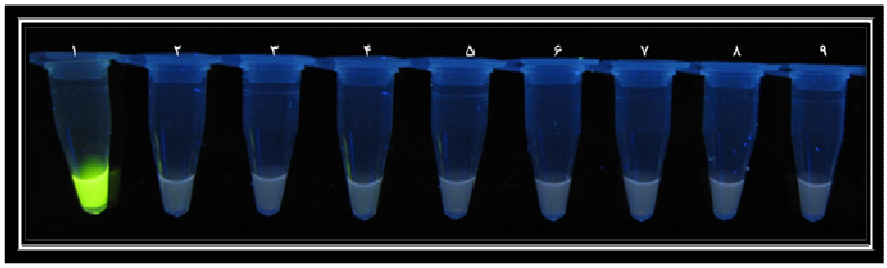
جدول۲: غلظت بهینه شده اجزا واکنش تست LAMP

DDW	5.2 µl	-
Betaine (5M)	4 µl	0.8 M
dNTP (10mM)	3.5 µl	1.4mM
10X Buffer	2.5 µl	1X
Mgso4 (100mM)	1.8 µl	7mM
Primer Mix I(Fip,Bip,F3,B3)	1 µl	-
Primer Mix II (LF,LB)	1 µl	-
Bst DNA Polymerase (8u/µl)	1 µl	-
C-/C+/ sample	5 µl	
Total	25 µl	Time=60 Min/ Temp=66ċ



شکل۲: حساسیت روش LAMP تا ۵ ذره ویروس

از چپ به راست، لوله ۱: سرم حاوی یک میلیون ذره ویروس، ۲: سرم حاوی ۱۰۰۰۰۰ ذره ویروس، ۳: سرم حاوی ۱۰۰۰۰ ذره ویروس، ۴: سرم حاوی ۱۰۰۰ ذره ویروس، ۵: سرم حاوی ۱۰۰ ذره ویروس، ۶: سرم حاوی ۵۰ ذره ویروس، ۷: سرم حاوی ۲۵ ذره ویروس، ۸: سرم حاوی ۵ ذره ویروس، ۹: سرم حاوی کمتر از ۵ ذره ویروس

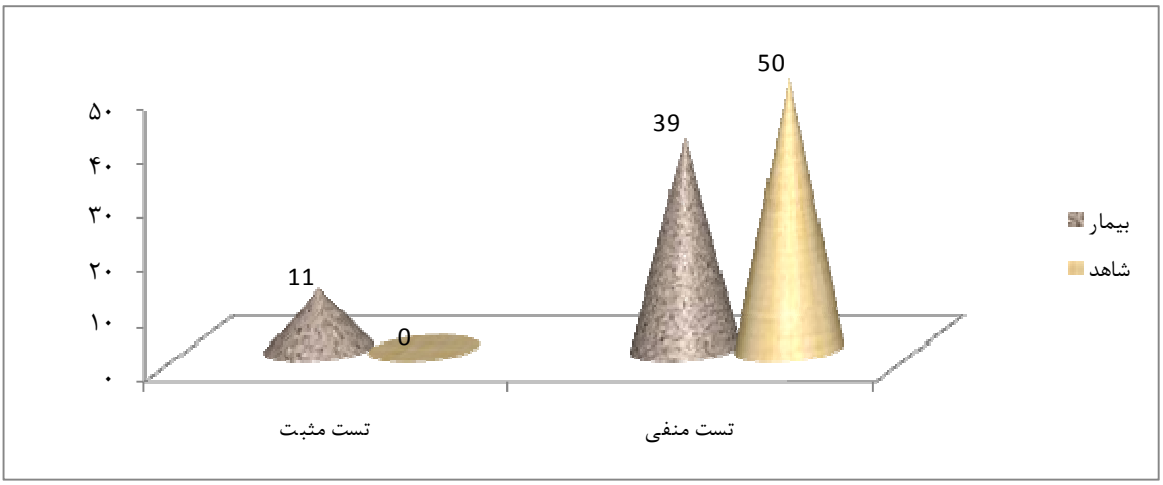


شکل ۳: نتایج تست LAMP ویروس‌های مختلف

لوله ۱: DNA ویروس HSV تیپ ۱ و ۲، ۲: DNA ویروس CMV، ۳: DNA ویروس VZV، ۴: DNA ویروس HBV، ۵: cDNA ویروس HCV، ۶: DNA باکتری MTB، ۷: DNA ساکارومیسس، ۸: DNA انسان ، ۹: کنترل منفی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-26]

از ۵۰ نمونه افراد مبتلا به MS، ۱۱نمونه HSV مثبت بودند (۲۲٪) این در حالی است که در ۵۰ نمونه افراد شاهد، تمامی سرم‌ها HSV (۰٪) منفی بودند (شکل۴). آزمون فیشر نشان دهنده تفاوت معنی‌داری آلودگی به ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۱ و ۲ در گروه بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس نسبت به گروه شاهد بود (p=۰/۰۰۱).



شکل۴: نتایج تست مثبت و منفی، در دو گروه شاهد و مبتلا به MS

بحث و نتیجه گیری

مهم‌ترین بعد نوآوری و جدید بودن این مطالعه کاربرد روش‌های جدید و چالش انگیز چون LAMP است که دارای ویژگی، حساسیت و دقت (Accuracy) بالایی جهت شناسایی عوامل عفونی می‌باشد. از سوی دیگر ویروس هرپس سیمپلکس یکی از عوامل عفونی شایع است که راه کنترل بیماری و درمان آن از طریق شناسایی افراد مبتلا در مواجه با این ویروس است. چون تشخیص سریع بیماری‌های به وجود آمده توسط این ویروس می‌تواند عامل مهمی در جلوگیری از گسترش بیماری به حساب آید، در نتیجه ابداع یک روش تشخیصی سریع که قادر به شناسایی عامل بیماری‌زا در مراحل اولیه بیماری باشد و همچنین امکان استفاده از آن در تمامی مراکز تشخیصی وجود داشته باشد، ضروری می‌باشد.

با توجه به اینکه تاکنون هیچ محققی از روش LAMP جهت شناسایی ویروس هرپس سیمپلکس و بررسی حضورش در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس استفاده ننموده بود، لذا این اولین بار است که از این روش جدید تکثیری برای شناسایی ویروس هرپس سیمپلکس در سرم افراد مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس استفاده می‌گردد.

روش LAMP از دیگر روش‌های تشخیص مولکولی می‌باشد که در سال ۲۰۰۰ میلادی برای اولین بار توسط Notomi طراحی گردید. Enomoto و همکاران برای اولین بار روش LAMP را برای تشخیص HSV مورد بررسی قرار دادند، که این روش را با Real Time-PCR مقایسه کردند. نتایج این مطالعه نشان داد روش LAMP در زمان کوتاه‌تری انجام شده و نیاز به تخریب سلول و استخراج DNA ندارد و دارای اختصاصیت و حساسیت بالاتری نسبت به روش Real Time-PCR است(۱۸). در ضمن مطالعه ای توسط Kimura و همکاران انجام شد و در این مطالعه دو روش LAMP و Real Time-PCR برای تشخیص DNAی HSV در مایع مغزی ـ نخاعی استفاده شد. در این آزمایش از نمونه‌هایی استفاده شد که قبلاً به وسیله Nested PCR بررسی شده بودند. نتایج Nested PCR با Real Time- PCR به طور کامل در توافق بودند. در این آزمایش حساسیت LAMP ۸۱٪ و ویژگی آن ۱۰۰٪ بود(۱۹). Kaneko و همکاران روشLAMP را برای تشخیص سریع

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-26]

HSV-1, HSV-2 و واریسلا زوستر استفاده کرد که دقت روش LAMP در تشخیص عفونت ویروس HSV نسبت به روش PCR، ۱۰ برابر بوده و برخلاف روش PCR از مواد بازدارنده موجود در محیط تأثیر نمی‌پذیرد(۲۰).

در مطالعه حاضر حساسیت روش LAMP تا ۵ ذره ویروس و ویژگی تست LAMP برای HSV ۱۰۰٪ بود. از این بررسی‌ها می‌توان نتیجه گرفت که روش LAMP، روشی با حساسیت و ویژگی بالا و هزینه پایین جهت تشخیص ویروس هرپس سیمپلکس در سرم افراد مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس می‌باشد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی می‌باشد، لذا پژوهشگر مراتب سپاس خود را از کلیه عزیزانی که وی را در مراحل مختلف پژوهش یاری نمودند به ویژه بیماران و مسئول محترم انجمن ام اس قمر بنی هاشم، تقدیم می‌دارد.

References:

1- Greenberg D, Aminoff M, Simon R. ***Clinical neurol***. McGraw-Hill Professional; 1999.p.210-11.

2- Kimura K, Ihira M, Enomoto Y, Kawada J, Ito Y, Morishima T. ***Rapid detection of herpes simplex virus DNA in cerebrospinal fluid: comparison between loop-mediated isothermal amplification and real-time PCR.*** Med MicrobialImmunol 2005; 194(4): 181-85.

3- Whitley R, Roizman B. ***Herpes simplex virus infections.*** Lancet 2001; 357(9267): 1513-18.

4- Solomon AR. ***New diagnostic tests for herpes simplex and varicella zoster infections.*** J Am Acad Dermatol 1988; 18(1 pt 2): 218-21.

5- Singh A, Preiksaitis S, Ferenczy A, Romanowski B. ***The laboratory diagnosis of herpes simplex virus infections.*** Can J Infect Dis Med Microbiol 2005; 16(2): 92-98.

6- Burbelo PD, Hoshino Y, Leahy H, Karogmann T, Hornung RL, Iadarola MJ, et al. ***Serological diagnosis of human HSV-1 and HSV-2 infection luciferase immunoprecipitation systems(lips) assay.*** Clin Vaccine Immunol 2009; 16(3): 366-71.

7- Conrady CD, Drevets DA, Carr DJ. ***Herpes simplex type-1 (HSV-1) infection of the nervous system: Is an immune response a good thing?.*** J Neuroimmonul 2009; 220(1-2): 1-9.

8- Notomi T,Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, et al. ***Loop-mediated isothermal amplification of DNA***. Nucleic Acids Res 2000; 28(12): E63.

9- Shahhosseiny MH. ***Basic molecular diagnosis***, 430 page, Publisher: Islamic azadUniversity,2005; 12-35.

10- Zhang D, Zhang W, Li X, Konomi Y. ***Detection of rare DNA targets byisothermal ramification amplification.*** Gene 2001; 274(1-2): 209-16.

11- Nagamine K, Hase T, Notomi T. ***Accelerated reaction by loop – mediated isothermal amplification using loop primers.*** Mol Cell Probes 2002; 16(3): 223-29.

12- Nagamine K, Watanabe K, Ohtsuka K, Hase T, Notomi T. ***Loop-mediated isothermal amplification reaction***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-26]

using a nondenatured template. Clin Chem 2001; 47(9): 1742-43.

13- Mori Y, Hirano T, Notoma T. ***Sequence specific visual detection of LAMP reactions by adition of cationic polymerase.*** BMC Biotechnol; 2006; 3.

14- Kimura K, Ihira M, Enomoto Y. Kawada J, Ito Y, Morishima T, et al. ***Rapiddetection of herpes simplex virus DNA in carberospindfluid:comparison between loop-mediated isothermal amplification and real-time PCR.*** Med Microbiol Immunol 2005; 194:181-5.

15- Enomoto Y, Yoshikava T, Ihira M, Akimoto M, Miyak F, Usui C, et al. ***Rapid diagnosis of herpes simplex virus infection by a loop-mediated isothermal amplification method.*** J Clin Microbiol 2005; 43(2): 951-55.

16- Sugiyama H, Yoshikawa T, Ihira M, Enomoto Y, Kawana T, Asano Y. ***Comparison of loop-mediated isothermal amplification, real-time PCR, and virus isolation for the detection of herpes simplex virus in genital lesions.*** J Med Virol 2005; 75(4) : 583-87.

17- Zhi-Xiang Z, Hua J, Ji-ping W, Liang C, Lin Q, Hong Z. ***Detection of herpes simplex virus type 2 DNA with loop-mediated isothermal amplification assay.*** J Univ South China (Medical Edition) 2010; 38(2): 180-82.

18- Enomoto Y, Ihira M, Yoshikawa T, Akimoto S, Ohashi M, Suga S, et al. ***Rapid diagnosis of human herpesvirus 6 infection by a novel DNA amplification method, loop-mediated isothermal amplification.*** J Clin Microbiol 2004; 42(1): 140-45.

19- Kimura K, Ihira M, Enomoto Y, Kawada J, Ito Y, Morishima T. ***Rapid detection of herpes simplex virus DNA in cerebrospinal fluid: comparison between loop-mediated isothermal amplification and real-time PCR.*** Med Microbial Immunol 2005; 194:181-85.

20- Kaneko H, Iida T, Aoki K, Ohno S, Suzutani T. ***Sensitive and rapid detection of herpes simplex virus and varicella – zoster virus DNA by loop- mediated isothermal amplification.*** J Clin Microbiol 2005; 43(7): 3290-98.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-26]

Investigating the Relative Frequency of Infection with Herpes Simplex Virus Types 1 and 2 in the Serum of Patients with Multiple Sclerosis via Using Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP)

Atefi A(MSc Student)[1], Shahhosseiny MH(PhD)[*2], Bidoki K(PhD)[3], Mansouri R(PhD)[4], Binesh F(PhD)[5], Atefi A(MSc)[6], Vassei M(MSc)[7]

[1,3]Department of Microbial Biotechnology, Payam Noor University, Tehran, Iran
[2]Department of Microbiology, Islamic Azad University, Ghods Branch, Tehran, Iran
[4]Department of Immunology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
[5]Department of Pathology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
[6]Nurse, Administrator MS Society QamarBaniHashem Yazd, Shahid Sadoughi Hospital, Yazd, Iran
[7]Laboratory Sciences, Shahid Sadoughi Hospital, Yazd, Iran

Received: 1 Aug 2013 ***Accepted:*** 5 Dec 2013

Abstract

Introduction: Multiple sclerosis (MS) is an inflammatory disease of the central nervous system (CNS). It is an Auto immune disease whose cause is still unknown though some factors can be named as its cause such as genetics, geographic element and viral agents. HSV is among the infection agents that may be involved in pathogenesis of MS. The aim of this study was to use a new technique called loop-mediated isothermal amplification to detect presence of Herpes Simplex Virus in patients harboring Multiple Sclerosis as well as in healthy individuals in the control group.

Methods: This study is a cross-sectional analytical study in which 50 multiple sclerosis patients and 50 healthy controls were included. The infection with herpes simplex virus types 1 and 2 was investigated by the new technique of LAMP.

Results: The sensitivity of this technique was 5 particle viruses and its specificity for HSV was 100%. Within the 50 patients with multiple sclerosis, 11 samples revealed positive results for HSV (22%), while in the control group no infection with herpes simplex virus was found (0%).

Conclusion: This study indicates that the LAMP technique owns high sensitivity and specificity for detection of herpes simplex virus types 1 and 2 in serum of patients with multiple sclerosis as well as the control group.

Keywords: Multiple Sclerosis; Herpes Simplex Virus; Loop Mediated Isothermal Amplification

This paper should be cited as:
Atefi A, Shahhosseiny MH, Bidoki K, Mansouri R, Binesh F, Atefi A, Vassei M. ***Investigating the relative frequency of infection with herpes simplex virus types 1 and 2 in the serum of patients with multiple sclerosis via using loop-mediated isothermal amplification (LAMP)***. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2014; 21(6): 823-30.

****Corresponding author: Tel: +98 9123304069 , Email: shahhosseiny@yahoo.com***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-26]