

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه شهید چمران اهواز

دانشکده علوم

پایان نامه کارشناسی ارشد زیست شناسی

گرایش: میکروبیولوژی

عنوان:

بررسی تیتراآنتی بادی سطحی ویروس هپاتیت B (HBsAb) وایتترفرون

گاما (IFN- γ) پرسنل بهداشتی - درمانی واکسینه شده با واکسن

نو ترکیب هپاتیت B شبکه بهداشت و درمان دشت آزادگان

استاد راهنما:

دکتر سیده الهام رضاتوفیقی

اساتید مشاور:

دکتر محمد رعایایی اردکانی

دکتر محمد رضا آخوند

نگارنده:

سوری حیدری

بهمن ماه ۱۳۹۳

یارب دل ما را توبه رحمت جان ده

در دهمه راه صابری درمان ده

این بنده چه داند که چه می باید جست

داننده تویی هر آنچه دانی آن ده

باشگر و سپاس فراوان از:

از استاد راهنمای کریم سرکار خانم دکتر سیده الهام رضا توفیقی به پاس عاطفه سرشار و گرمای امید بخش وجودشان که در این سردترین روزگار ان بهترین پشتیبان است به پاس قلب بزرگشان که فریادرس است و سرگردانی و ترس در پناهشان به شجاعت می گراید و به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند بسیار سپاسگذارم چرا که بدون راهنمایی ایشان تاین این پایان نامه بسیار مشکل می نمود. از استاد کریم جناب آقای دکتر محمد رحمانی اردکانی بسیار سپاسگذارم. از جناب آقای دکتر محمد رضا آخوند به دلیل یاریها و راهنمایی بی چشمداشت ایشان که بسیاری از سختیها را بر ایم آسانتر نمودند بسیار سپاسگذارم.

سپاس و ستایش مرخداى راجل و جلاله كه آثار قدرت او بر چهره روز روشن،
تبان است و انوار حكمت او در دل شب تار، در فشان. آفریدگارى كه
نخوشتن را به ما شناساند و درهاى علم را بر ما كشود و عمرى و فرصتى عطا فرمود تا بدان،
بنده ضعیف خویش را در طریق علم و معرفت یازماید

تقدیم به:

روح پاک پدرم، مادرم

و خواهر عزیزم كه عالمانه به من آموختند تا چگونه در عرصه زندگى، ایستادگى را تجربه نمایم
و به برادرم، دریایى بنی کران فداكارى و عشق كه وجودم برایش همه رنج بود و وجودش
برایم همه مهر

چکیده

نام خانوادگی : حیدری	نام: سوری	شماره دانشجویی : ۹۱۵۵۵۳۳۱۱۱
عنوان پایان نامه : بررسی تیتراآنتی بادی سطحی ویروس هپاتیت B (HBsAb) و اینترفرون گاما (IFN- γ) پرسنل بهداشتی - درمانی واکسینه شده با واکسن نو ترکیب هپاتیت B شبکه بهداشت و درمان دشت آزادگان		
استاد راهنما: دکتر سیده الهام رضاتوفیقی		
اساتید مشاور: دکتر محمد رعایایی اردکانی، دکتر محمد رضا آخوند		
درجه تحصیلی: ارشد	رشته: زیست شناسی	گرایش: میکروبیولوژی
دانشگاه: شهید چمران اهواز	دانشکده: علوم	گروه: زیست شناسی
تاریخ فارغ التحصیلی :		تعداد صفحه:
کلید واژه ها : هپاتیت B، واکسیناسیون، HBs Ab، IFN- γ		
<p>ویروس هپاتیت B^۱ (HBV) یکی از عوامل مهم هپاتیت حاد و مزمن بوده که می تواند حتی منجر به بروز، سیروز و کارسینومای هپاتوسلولار گردد. پرسنل بهداشتی و دانشجویان پزشکی در مقایسه با سایر گروههای جامعه به دلیل مواجهه مکرر با بیماران و فرآورده های خونی و نیز ترشحات قسمت های مختلف بدن در ریسک بالاتر ابتلاء به بیماریهای عفونی از جمله هپاتیت B قرار دارند. این مطالعه مقطعی بر روی تعداد ۱۳۰ نفر از پرسنل شبکه بهداشت و درمان شهرستان دشت آزادگان که واکسن نو ترکیب هپاتیت B دریافت نموده بودند انجام شد. تعداد 5×10^6 سلول تک هسته ای خون محیطی (PBMC) بعد از جداسازی با فایکول در ۱۷۰ میکرولیتر محیط کشت RPMI 1640 حاوی پنی سیلین (۱۰۰ U/ml) استروپتومايسين (۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$) و FBS (۱۰٪) به میکروپلیت های ۹۶ خانه ای اضافه شد و جهت تحریک سلولها به محیط کشت حاوی PBMC ۱۵ میکرولیتر آنتی ژن ویروسی هپاتیت B (۲۰ $\mu\text{g/ml}$) recombinant HBsAg (برای هر چاهک) اضافه شد. سلولها در انکوباتور ۵٪ CO₂ به مدت ۴۸ ساعت در شرایط دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در مجاورت آنتی ژن ویروسی انکوبه گردید. مایع رویی محیط کشت سلول با استفاده از کیت الیزا جهت ترشح و تولید IFNγ با روش الیزا سنجیده می شد. نمونه ها از لحاظ سطح آنتی بادی ضد ویروس هپاتیت B به طریق الیزا بررسی شدند. یافته ها: نتایج حاکی از آن بود که ۶۸/۵٪ پرسنل پاسخ ایمنی خوب ۳۱/۵٪ عدم پاسخ به واکسیناسیون داشتند. میزان اینترفرون گاما $47/14 \pm 46/35$ بود بین تیترا IFN-γ و تیترا anti-HBS افراد مور مطالعه ارتباط مستقیم وجود دارد ($r=0/653$). بین میزان تیترا IFN-γ و تیترا anti-HBS با شاخص توده بدنی، تعداد دوز واکسن، فاصله زمانی آخرین تزریق واکسن ارتباط معنی داری وجود داشت ($P < 0/05$). نتیجه گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که ۳۰/۷۶٪ از افراد تحت مطالعه مصونیتی نسبت به دریافت واکسن هپاتیت B نداشتند. پیشنهاد می شود ۵ سال پس از تزریق واکسن سطح HBs Ab در افراد در معرض خطر اندازه گیری و سپس در خصوص استفاده از دوز یادآور تصمیم گیری صورت گرفته و پیگیری شود.</p>		

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

فصل اول: کلیات پژوهش

- ۱-۱- مقدمه ۲
- ۲-۱- اهداف ۵

فصل دوم: مبانی نظر و پیشینه پژوهش

- ۱-۲- خانواده هیادنو ویریده ۷
- ۱-۲-۱- مقدمه و طبقه بندی هپاتیت و ویروسی ۷
- ۱-۲-۱-۱- ساختمان و ویژگی های ویروس هپاتیت B ۱۱
- ۱-۲-۱-۲- اپیدمیولوژی ویروس هپاتیت B ۱۳
- ۱-۲-۱-۳- راه های انتقال عفونت ۱۵
- ۱-۲-۱-۴- علائم بالینی ۱۶
- ۱-۲-۱-۵- تشخیص آزمایشگاهی ۱۷
- ۱-۲-۱-۶- عفونت خود محدود همراه با بهبودی در هپاتیت B ۲۰
- ۱-۲-۱-۷- عفونت پایدار با ویروس هپاتیت B ۲۲
- ۱-۲-۱-۸- راه های کنترل و پیشگیری هپاتیت B ۲۵
- ۲-۲- واکسن هپاتیت B ۲۵
- ۱-۲-۲- تاریخچه واکسن هپاتیت B ۲۵
- ۲-۲-۳- انواع واکسن هپاتیت B مورد استفاده در ایران ۲۶
- ۲-۲-۴- انواع روش های ایمنیزایی واکسن هپاتیت B ۲۶

- ۲۷ ۲-۲-۵-مصون سازی فعال واکسن هپاتیت B
- ۲۷ ۲-۲-۶-مصون سازی غیرفعال واکسن هپاتیت B
- ۲۹ ۲-۳-۳-سنجش سرولوژیک آنتی ژن و آنتی بادیهای هپاتیت B
- ۳۱ ۲-۳-۱-روش های سنجش آنتی بادی و آنتی ژن با روش آنزیم ایمنواسی
- ۳۲ ۲-۳-۲-آنزیم ایمنواسی رقابتی
- ۳۳ ۲-۳-۳-آنزیم ایمنواسی غیر رقابتی
- ۳۴ ۲-۳-۴-روش لکه گذاری نقطهای
- ۳۵ ۲-۴-۴-دلایل عدم پاسخدهی به واکسن هپاتیت B
- ۳۶ ۲-۵-۵-سایتوکاین ها در هپاتیت ویروسی
- ۳۷ ۲-۵-۱-ایتترفرون ها: (IFNs)
- ۳۷ ۲-۵-۲-انواع ایتترفرون
- ۳۸ ۲-۵-۳-ایتترفرون گاما
- ۳۹ ۲-۶-۶-مطالعات انجام گرفته براساس روش الایزا (ELISA)

فصل سوم: روش شناسی پژوهش

- ۴۳ ۳-۱-۱- وسایل و مواد لازم
- ۴۳ ۳-۱-۱- وسایل
- ۴۴ ۳-۱-۲- مواد مورد استفاده در این مطالعه در جدول (۳-۲) ارائه گردیده است
- ۴۵ ۳-۲-۲-روش کار
- ۴۵ ۳-۲-۱- روش تهیه محلول نرمال سالین (کلرور سدیم ۰/۸/۵)

- ۴۵ ۳-۲-۳-نمونه گیری.....
- ۴۵ ۳-۲-۱-نمونه گیری خون وجداسازی سرم.....
- ۴۶ ۳-۲-۴-روش الیزا Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.....
- ۴۶ آماده سازی کیت.....
- ۴۷ ۳-۲-۵- معرف‌های موجود در کیت.....
- ۴۸ ۳-۲-۶-روش اجرای آزمون Antibody capture sandwich.....
- ۴۹ ۳-۲-۷- محاسبه نتایج به روش کمی.....
- ۵۰ ۳-۲-۸-محاسبه نتایج (آزمون کیفی).....
- ۵۰ ۳-۲-۱۰-سنجش γ -INF.....
- ۵۰ ۳-۲-۱۰-۱-جداسازی بافی کوت.....
- ۵۲ ۳-۲-۱۰-۲-ارزیابی زنده بودن لنفوسیت ها Viability Test.....
- ۵۲ ۳-۲-۱۰-۳-کشت سلول.....
- ۵۳ ۳-۲-۱۰-۴-روش کشت.....
- ۵۳ ۳-۲-۱۱-سنجش اینترفرون گاما.....
- ۵۳ ۳-۲-۱۱-۱-روش الیزا Sandwich ELISA.....
- ۵۳ ۳-۲-۱۱-۲-مراحل انجام آزمون الیزا و آماده سازی اجزای آن.....
- ۵۴ ۳-۲-۱۱-۳-روش محاسبه نتایج.....
- ۵۵ ۳-۲-۱۱-۴- تعداد نمونه و محاسبات آماری.....

فصل چهارم: یافته‌های پژوهش

- ۴-۱- تفسیر نتایج (آزمون کمی)..... ۵۷
- ۴-۲- متغیرهای دموگرافیک..... ۵۷
- ۴-۲-۱- سن..... ۵۷
- ۴-۲-۲- جنسیت..... ۵۸
- ۴-۲-۳- شغل..... ۵۹
- ۴-۲-۴- تعداد دوز واکسن هپاتیت B دریافتی پرسنل..... ۶۰
- ۴-۲-۵- زمان سپری شده از آخرین واکسیناسیون..... ۶۱
- ۴-۲-۶- شاخص توده بدنی در پرسنل..... ۶۲
- ۴-۳- سنجش میزان آنتی بادی هپاتیت B (HBsAb)..... ۶۳
- ۴-۳-۱- نمونه گیری خون وجداسازی سرم..... ۶۳
- ۴-۳-۲- منحنی استاندارد HBsAb..... ۶۴
- ۴-۳-۳- میزان تیتر HBsAb در افراد مورد مطالعه..... ۶۵
- ۴-۳-۴- میزان تیتر anti-HBs و زمان سپری شده از آخرین واکسیناسیون..... ۶۶
- ۴-۳-۵- مقایسات دو به دوی میانگین ها برای مدت زمان سپری شده از واکسن..... ۶۶
- ۴-۳-۶- تاثیر سن بر تیتر anti-HBs..... ۶۷
- ۴-۳-۷- تاثیر جنس بر تیتر anti-HBs..... ۶۷
- ۴-۳-۸- تاثیر تعداد دفعات تزریق واکسن بر تیتر anti-HBs..... ۶۸
- ۴-۳-۹- مقایسات دو به دوی میانگین ها برای تعداد دوز واکسن..... ۶۸

- ۶۹۱۰-۳-۴-تأثیر شغل بر میزان تیتر HBsAb.....
- ۶۹۱۱-۳-۴-مقایسات دو به دوی میانگین ها برای شغل.....
- ۶۹۱۲-۳-۴-تأثیر شاخص توده بدنی بر میزان تیتر HBsAb.....
- ۷۰۱۳-۳-۴-مقایسات دو به دوی میانگین ها برای شاخص توده بدنی.....
- ۷۱۴-۴-کشت سلولی و ترشح سایتوکاین IFN- γ
- ۷۱۱-۴-۴-جداسازی بافی کوت.....
- ۷۴۲-۴-۴-سنجش غلظت سایتوکاین IFN- γ
- ۷۵۳-۴-۴-میزان غلظت IFN- γ در افراد مورد مطالعه.....
- ۴-۴-۴-میزان غلظت اینترفرون گاما در گروه کنترل با تحریک وبدون تحریک آنتی ژن سطحی
- ۷۵ویروس هپاتیت B.....
- ۷۶۵-۴-۴-تأثیر زمان سپری شده از آخرین واکسیناسیون بر میزان تیتر اینترفرون گاما افراد.....
- ۷۶۶-۴-۴-مقایسات دو به دوی میانگین ها برای مدت زمان سپری شده از واکسن.....
- ۷۷۷-۴-۴-تأثیر سن بر تیتر اینترفرون گاما IFN- γ
- ۷۷۸-۴-۴-تأثیر جنس بر میزان تیتر IFN- γ افراد.....
- ۷۸۹-۴-۴-تأثیر تعداد دوز واکسن بر میزان تیتر IFN- γ
- ۷۸۱۰-۴-۴-مقایسات دو به دوی میانگینها برای تعداد دوزواکسن.....
- ۷۹۱۱-۴-۴-تأثیر نوع شغل بر میزان تیتر IFN- γ
- ۷۹۱۲-۴-۴-مقایسات دو به دوی میانگین ها برای شغل.....
- ۸۰۱۳-۴-۴-شاخص توده بدنی بر میزان تیتر IFN- γ

- ۸۰ ۴-۴-۱۴-مقایسات دو به دوی میانگین ها برای شاخص توده بدنی
- ۸۱ ۴-۴-۱۵-ارتباط بین میزان تیتراژ IFN- γ و تیتراژ anti-HBs افراد مورد مطالعه
- ۸۱ ۴-۵-همبستگی IFN- γ و HBsAb

فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری

- ۸۵ ۵-۱-۱- میزان تیتراژ هیپاتیت B
- ۸۵ ۵-۱-۱- تاثیر تعداد دفعات تزریق واکسن بر تیتراژ anti-HBs
- ۸۷ ۵-۱-۲- تاثیر جنس بر تیتراژ anti-HBs
- ۸۷ ۵-۱-۳- تاثیر سن بر تیتراژ anti-HBs
- ۸۸ ۵-۱-۴- تاثیر زمان سپری شده از آخرین واکسیناسیون بر تیتراژ anti-HBs
- ۹۰ ۵-۱-۵- تاثیر زمان سپری شده از آخرین واکسیناسیون بر تیتراژ anti-HBs
- ۹۱ ۵-۱-۶- تاثیر شغل بر میزان تیتراژ HBsAb
- ۹۲ ۵-۱-۷- نقص سیستم ایمنی و ژنتیک میزبان
- ۹۴ ۵-۲- میزان تیتراژ سایتوکاین IFN- γ
- ۹۷ ۵-۲-۱- همبستگی بین IFN- γ و HBsAb
- ۹۹ ۵-۳- پیشنهادات
- ۱۰۱ منابع فارسی
- ۱۰۲ منابع انگلیسی

فهرست جداول

صفحه	عنوان
۹.....	جدول ۱-۲: ویروس هایی که در کبد عفونت ایجاد می کند به سه گروه تقسیم می شود:
۱۵	جدول ۲-۲: میزان غلظت ویروس هپاتیت B در مایعات بدن.....
۱۷	جدول ۳-۲: دوره کمون، نمای بالینی، و میزان مرگ و میر در عفونت با هپاتیت B و ارتباط آن با سن در زمان ابتلا به عفونت.....
۱۸.....	جدول ۴-۲: شاخص های سرولوژیک هپاتیت B.....
۲۹.....	جدول ۵-۲ اساس فرایندهایی که در آزمایش های سرولوژیک شاخص های هپاتیت B استفاده می شود.....
۴۳.....	جدول ۱-۳: وسایل و دستگاه های که در این پژوهش به کار رفته است.....
۵۷.....	جدول شماره (۴-۱) نتایج به دست آمده از اندازه گیری تیتراژ HBS Ab پرسنل واکسینه شده شبکه بهداشت و درمان دشت آزادگان.....
۵۸.....	جدول (۴-۲) فراوانی سن و میانگین \pm انحراف معیار HbsAb و IFN- γ در پرسنل شبکه بهداشت و درمان دشت آزادگان.....
۵۹.....	جدول (۴-۳) توزیع جنسیت و میانگین \pm انحراف معیار HbsAb و IFN- γ در پرسنل شبکه بهداشت و درمان دشت آزادگان.....
۵۹.....	جدول (۴-۴) فراوانی شغل و میانگین \pm انحراف معیار HbsAb و IFN- γ در پرسنل شبکه بهداشت و درمان دشت آزادگان.....
۶۰.....	جدول (۴-۵) فراوانی تعداد دوز واکسن هپاتیت B دریافتی و میانگین \pm انحراف معیار HbsAb و IFN- γ در پرسنل شبکه بهداشت و درمان دشت آزادگان.....

- جدول (۶-۴) بررسی تاثیر زمان سپری شده از آخرین واکسیناسیون و میانگین \pm انحراف معیار HbsAb و IFN- γ در پرسنل شبکه بهداشت و درمان دشت آزادگان..... ۶۲
- جدول (۷-۴) بررسی فراوانی شاخص توده بدنی و میانگین \pm انحراف معیار HbsAb و IFN- γ در پرسنل شبکه بهداشت و درمان دشت آزادگان..... ۶۳
- جدول شماره (۸-۴) مشخصات آماری سطح سرمی HBsAb در افراد مورد مطالعه..... ۶۵
- جدول ۹-۴- آزمون بررسی تاثیر زمان سپری شده از واکسیناسیون بر میزان تیتراژ HBsAb افراد مورد مطالعه..... ۶۶
- جدول (۱۰-۴) مقایسات دو به دوی میانگین ها برای مدت زمان سپری شده از واکسن..... ۶۷
- جدول ۱۱-۴- بررسی تاثیر سن بر تیتراژ anti-HBs افراد مورد مطالعه..... ۶۷
- جدول (۱۲-۴) بررسی تاثیر جنس بر تیتراژ anti-HBs افراد مورد مطالعه..... ۶۷
- جدول ۱۳-۴- آزمون بررسی تاثیر تعداد دفعات تزریق واکسن بر تیتراژ anti-HBs افراد مورد مطالعه..... ۶۸
- جدول (۱۴-۴) مقایسات دو به دوی میانگین ها برای تعداد دوز واکسن..... ۶۸
- جدول (۱۵-۴) آزمون بررسی تاثیر شغل بر میزان تیتراژ HBsAb افراد مورد مطالعه..... ۶۹
- جدول (۱۶-۴) مقایسات دو به دوی میانگین ها برای شغل..... ۶۹
- جدول (۱۷-۴) آزمون بررسی تاثیر شاخص توده بدنی بر میزان تیتراژ HBsAb افراد مورد مطالعه..... ۷۰
- جدول (۱۸-۴) مقایسات دو به دوی میانگین ها برای شاخص توده بدنی..... ۷۰
- جدول شماره (۱۹-۴) مشخصات آماری سطح سرمی سایتوکاین IFN- γ در افراد مورد مطالعه..... ۷۵

- جدول شماره (۴-۲۰) نتایج حاصل از سنجش اینترفرون گاما در گروه های کنترل و شاهد..... ۷۶
- جدول (۴-۲۱) آزمون بررسی تاثیر زمان سپری شده از آخرین واکسیناسیون بر میزان غلظت اینترفرون گاما افراد مورد مطالعه..... ۷۶
- جدول (۴-۲۲) مقایسات دو به دوی میانگین ها برای مدت زمان سپری شده از واکسن..... ۷۷
- جدول (۴-۲۳) آزمون بررسی تاثیر سن بر تیتراژ IFN- γ افراد مورد مطالعه..... ۷۷
- جدول ۴-۲۴- آزمون بررسی تاثیر جنس بر میزان تیتراژ IFN- γ افراد مورد مطالعه..... ۷۸
- جدول ۴-۲۵- آزمون بررسی تاثیر تعداد دوز واکسن بر میزان تیتراژ IFN- γ افراد مورد مطالعه..... ۷۸
- جدول (۴-۲۶) مقایسه های دو به دوی میانگین ها برای تعداد دوز واکسن..... ۷۹
- جدول (۴-۲۷)- آزمون بررسی تاثیر شغل بر میزان غلظت اینترفرون گاما IFN- γ افراد مورد مطالعه..... ۷۹
- جدول (۴-۲۸)- مقایسات دو به دوی میانگین ها برای شغل..... ۷۹
- جدول (۴-۲۹)- آزمون بررسی تاثیر شاخص توده بدنی بر میزان تیتراژ IFN- γ افراد مورد مطالعه..... ۸۰
- جدول (۴-۳۰)- مقایسات دو به دوی میانگین ها برای شاخص توده بدنی..... ۸۰
- جدول (۴-۳۱) بررسی ارتباط بین تیتراژ IFN- γ و تیتراژ anti-HBs افراد مورد مطالعه..... ۸۱
- جدول (۴-۳۲) برازش مدل رگرسیون لجستیک..... ۸۲

فهرست نمودار

عنوان	صفحه
نمودار (۱-۴) فراوانی سن در پرسنل شبکه بهداشت و درمان دشت آزادگان.....	۵۸
نمودار (۲-۴) فراوانی جنس در پرسنل شبکه بهداشت و درمان دشت آزادگان.....	۵۹
نمودار (۴-۴) فراوانی شغل پرسنل شبکه بهداشت و درمان دشت آزادگان.....	۶۰
نمودار (۵-۴) فراوانی تعداد دوز واکسن هیپاتیت B دریافتی در پرسنل شبکه بهداشت و درمان دشت آزادگان.....	۶۱
نمودار (۶-۴) بررسی تاثیر زمان سپری شده از آخرین واکسیناسیون در پرسنل شبکه بهداشت و درمان دشت آزادگان.....	۶۲
نمودار (۷-۴) فراوانی شاخص توده بدنی در پرسنل شبکه بهداشت و درمان دشت آزادگان.....	۶۳
نمودار (۸-۴) منحنی استاندارد سنجش HBsAb.....	۶۵
نمودار (۹-۴) میزان تیتراژ HBsAb در افراد مورد مطالعه.....	۶۵
نمودار (۱۰-۴) منحنی استاندارد سنجش IFN- γ	۷۴
نمودار (۱۱-۴) میزان غلظت IFN- γ در افراد مورد مطالعه.....	۷۵
نمودار (۱۲-۴) نمودار پراکنش و نوع ارتباط بین تیتراژ IFN- γ و تیتراژ anti-HBs افراد مورد مطالعه.....	۸۲
نمودار ۴-۱۳- منحنی مشخصه عملکرد (ROC Curve).....	۸۳

فهرست اشکال

عنوان	صفحه
شکل ۱-۲: چشم انداز تاریخی هپاتیت های ویروسی.....	۸
شکل ۲-۲: نمای شماتیک ویروس هپاتیت B شامل پوشش سطحی ویروس و ناحیه مرکزی که در آن آنتی ژن ناحیه مرکزی، و DNA پلی مرار قرار دارد.....	۱۲
شکل ۳-۲: بروز شاخصهای ویروس در طی عفونت با ویروس هپاتیت B که با بهبودی بیمار همراه است (عفونت خود محدود).....	۲۱
شکل ۴-۲- بروز شاخصهای ویروس هپاتیت B در طی یک عفونت مزمن پایدار.....	۲۲
شکل ۵-۲: بروز شاخصهای ویروس هپاتیت B طی یک عفونت پایدار، همراه با مثبت ماندن HBeAg برای سال ها پس از عفونت.....	۲۴
شکل ۶-۲- مدت زمان لازم برای سنتز سایتوکاین ها و ایترترون بعد از عفونت ویروسی.....	۳۹
جدول ۲-۳- مواد مورد استفاده در این پژوهش.....	۴۴
شکل ۳-۱- مراحل انجام الایزا HBsAb (برگرفته از سایت www.eiaab.com).....	۴۶
شکل ۳-۲- جداسازی بافی کوت.....	۵۱
شکل ۴-۱- جداسازی سرم افراد مورد مطالعه.....	۶۴
شکل ۴-۲- پلیت مربوط به الایزا HBsAb افراد مورد مطالعه.....	۶۴
شکل ۴-۳- ۵ml خون پبارینه و ۳ml محلول فایکول را در لوله ۵ml فالكون.....	۷۲
شکل ۴-۴- لئوسیت های جدا شده (PBMC) بعد از ۲۰ دقیقه سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ rpm.....	۷۲
شکل ۴-۵- سلول های تک هسته ای خون محیطی در محیط کشت RPMI1640 کشت داده شد.....	۷۳

شکل ۴-۶- سلول های تک هسته ای خون محیطی در محیط کشت RPMI1640 پس از ۴۸ ساعت

در انکوباتور CO₂ دار در دمای ۳۷ °C با تحریک آنتی ژن سطحی ویروس هپاتیت B..... ۷۳

شکل ۴-۷- پلیت مربوط به الایزا IFN- γ افراد مورد مطالعه..... ۷۴

فصل اول

مقدمه



ویروس هپاتیت B^۱ (HBV) یکی از عوامل مهم هپاتیت حاد و مزمن بوده که می‌تواند حتی منجر به بروز سیروز و کارسینومای هپاتوسلولار گردد (۳). ویروس هپاتیت B عامل هپاتیت سرمی و در خانواده هپادناویریده طبقه بندی می‌شود. HbeAg، یک آنتی ژن محلول است که با تکثیر ویروس، تیتراهای بالای ویروس در سرم و نیز با عفونت زایی ویروس در ارتباط است. HbcAg، آنتی ژن بخش مرکزی ویروس می‌باشد. HBsAg، آنتی ژن سطحی ویروس است که در سرم قابل اندازه‌گیری می‌باشد (۱۴).

این ویروس که به وسیله گلیکوپروتئین‌های HbsAg به سلول‌های کبدی اتصال می‌یابد، می‌تواند بیماری مزمن دارای علائم کلینیکی و بدون علائم را ایجاد کند که به پاسخ فرد نسبت به عفونت بستگی دارد. مشاهده هر دو آنتی ژن HBe و HBs و ویریون ویروس در خون، نشان دهنده وجود عفونت فعال است.

این ویروس معمولاً از راه آمیزشی، تزریق خون، و تزریق با سرنگ آلوده انتقال می‌یابد (۱۲). بر اساس برآورد سازمان بهداشت جهانی (WHO)^۲ در حدود ۳۵۰ میلیون نفر از جمعیت جهان به ویروس هپاتیت B (HBV) آلوده هستند و سالانه در حدود ۲ میلیون نفر از عوارض هپاتیت B، می‌میرند (۲). تا به حال از دو نوع واکسن به منظور پیشگیری از عفونت HBV استفاده شده است ابتدا واکسن پلاسمایی مورد استفاده قرار گرفت این واکسن از غیر فعال نمودن فیزیکی و یا شیمیایی پلاسمای افراد ناقل ویروس بدست می‌آمد. اما متعاقب ساخت واکسن‌های نو ترکیب از

1- Hepatitis B virus

2- World Health Organization

سال ۱۹۸۱ به تدریج این واکسن‌ها جایگزین واکسن‌های پلاسمایی شدند. واکسن‌های نو ترکیب از بیان ژن آنتی‌ژن سطحی ویروس هپاتیت B (HBsAg) در سلول‌های مخمر^۱ تهیه می‌شوند (۱۶).

از زمانی که واکسن هپاتیت B تهیه و در دسترس قرار گرفت، کمیته^۲ مشورتی کاربرد ایمنی زایی وابسته به مرکز کنترل بیماری‌ها در آمریکا، واکسیناسیون افرادی که در معرض خطر (high risk) هستند را توصیه نمود. واکسن‌های نو ترکیب و پلاسمایی هپاتیت B باعث القاء آنتی‌بادی ضد HBs می‌شوند و حداقل تیترا مصونیت بخش این آنتی‌بادی ۱۰ IU/ml تعیین شده است (۲۰).

پرسنل بهداشتی و پزشکی در مقایسه با سایر گروه‌های جامعه به دلیل مواجهه مکرر با بیماران و فرآورده‌های خونی و نیز ترشحات قسمت‌های مختلف بدن در ریسک بالاتر ابتلاء به بیماری‌های عفونی از جمله هپاتیت B قرار دارند (۶). یکی از راه‌های پیشگیری، مصون‌سازی توسط واکسیناسیون علیه این ویروس‌ها است.

ایمن‌سازی بر علیه هپاتیت B با ۲ روش فعال (Active) و غیرفعال (Passive) انجام می‌شود. مصون‌سازی فعال واکسیناسیون هپاتیت در سه نوبت (در شیرخواران روز تولد، ۲ ماهگی و ۶ ماهگی و در بالغین روز مراجعه، یک ماه پس از مراجعه اول و ۶ ماه پس از مراجعه اول) انجام می‌شود. نوزادان با وزن کم هنگام تولد (کمتر از ۲۰۰۰ گرم) یک دز اضافی در یک ماهگی دریافت خواهند کرد. پاسخ ایمنی در کودکان زیر ۳ سال ۹۷٪ و در بالغین ۳۰-۴۹ ساله ۹۵٪ است. واکسیناسیون بالغین با دوز ۱ ml و در کودکان زیر ۱۰ سال با دوز ۰/۵ ml داخل عضلانی تزریق می‌شود (۱۳).

مصون‌سازی غیرفعال این نوع مصون‌سازی برای کودک متولد شده از مادر مبتلا انجام می‌شود استراتژی سازمان بهداشت جهانی (WHO) برای کنترل مؤثر عفونت HBV واکسیناسیون با