

سرو اپیدمیولوژی هرپس سیمپلکس تیپ ۱ در مراجعین به آزمایشگاههای شهر گرگان سال ۱۳۸۵

چکیده

زمینه و هدف: عفونت ویروسی هرپس سیمپلکس تیپ ۱ تظاهرات بالینی خود را اکثراً به صورت تب خال نشان داده است ولی قادر به ایجاد بیماریهایی مانند التهاب قرنیه، هرپس تناسلی، انسفالیت و هرپس نوزادی نیز می باشد. در این تحقیق تعیین سرواپیدمیولوژیک عفونت به هرپس سیمپلکس تیپ ۱ در مراجعه کنندگان به آزمایشگاههای شهر گرگان مد نظر بود.

روش بررسی: جامعه مورد مطالعه مراجعه کنندگان به آزمایشگاه های دولتی و خصوصی شهر گرگان بود. توزیع سنی افراد از ۱ تا ۸۳ سال را شامل می شد. از تعداد ۴۰۶ نفر مراجعه کننده به ۱۰ آزمایشگاه سطح شهر به طور تصادفی نمونه خون گرفته شد. سرم خون این افراد در همان آزمایشگاه جدا و همراه با پرسنل پیر شده داوطلبان به آزمایشگاه تحقیقات بالینی دانشکده پیراپزشکی انتقال یافته و با روش الایزا از نظر وجود آنتی بادی ضد HSV-1 آزمایش گردیدند.

یافته ها: این بررسی نشان داد که ۴۹٪ افراد دارای آنتی بادی ضد HSV-1 (برای IgG و IgM به ترتیب ۴۴/۳٪ و ۴/۷٪) بودند. بر اساس تجزیه تحلیل آماری داده ها، بین افراد دارای آنتی بادی ضد HSV-1 با جنس، قومیت، سن و وضعیت تاهل اختلاف آماری معنی داری مشاهده نگردید. **نتیجه گیری:** شیوع سرمی آنتی بادهای ضد HSV-1 در شهر گرگان با پژوهشهای انجام یافته در سایر نقاط ایران همخوان است، ولی بالاتر از کشورهای اروپایی و پایین تر از کشورهای آفریقایی است. علت آن ممکن است مرتبط با فرهنگ اجتماعی منطقه باشد که بررسی احتمال دقیق تر، مطالعات بیشتری را می طلبد.

واژه های کلیدی: HSV-1، آنتی بادی، گرگان

سید محمد هدایت مفیدی

کارشناس ارشد ایمنولوژی، دانشکده پیراپزشکی،
دانشگاه علوم پزشکی گلستان

عبدالوهاب مرادی

دانشیار گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی
گلستان

محسن سعیدی

کارشناس ارشد ایمنولوژی دانشکده پزشکی،
دانشگاه علوم پزشکی گلستان

ناصر بهنام پور

کارشناس ارشد آمار زیستی، دانشکده پیراپزشکی،
دانشگاه علوم پزشکی گلستان

جواد عرب یار محمدی

دانشجوی رشته علوم آزمایشگاهی دانشکده
پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

نویسنده مسئول: سید محمد هدایت مفیدی

تلفن: ۰۱۷۱۴۴۲۱۶۵۱

پست

الکترونیک: mofidi_h@yahoo.com

آدرس: گرگان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

وصول مقاله: ۸۶/۷/۲۹

اصلاح نهایی: ۸۷/۶/۲۰

پذیرش مقاله: ۸۷/۷/۷

مقدمه

عفونتهای تب خالی یکی از شایعترین عفونتهای انسانی است و حتی قادر به ایجاد آلودگی در بدو تولد می باشند (۱). تظاهرات بالینی ایجاد شده از ویروس هرپس سیمپلکس، در سطوح جلدی - مخاطی، سیستم عصبی مرکزی و اندامهای احشایی قابل مشاهده است. به نظر می رسد که انسان، تنها مخزن طبیعی این ویروسها باشد. مطالعات نشان می دهد میزان افراد آلوده سال به سال رو به افزایش است (۲). هرپس تیپ ۱ اغلب از راه بوسیدن و تیپ ۲ بیشتر از طریق تماس جنسی اشاعه می یابد. بیماریهای ایجاد شده از HSV-1 به شکل تب خال، التهاب مخاط دهان و لثه، التهاب قرنیه و ملتحمه چشم، هرپس تناسلی، هرپس پوستی، هرپس نوزادی و انسفالیت خود رانشان می دهند. کودکان ۶ ماهه تا ۳ ساله بیش از سایر افراد در دهان خود حامل این ویروسند. تا زمان بلوغ بیش از ۹۰-۷۰ درصد از نوجوانان دارای آنتی بادیهای علیه HSV-1 می باشند (۳). افراد ساکن در کشورهای در حال توسعه نسبت به کشورهای پیشرفته در سنین پایین تری دارای آنتی بادی می گردند (۴). بیش از ۹۰ درصد بالغین تا دهه پنجم عمر، دارای آنتی بادیهای ضد HSV-1 هستند. آنتی بادی در زنان بیش از مردان و در سیاه پوستان بیش از سفید پوستان وجود دارد. این فراوانی، با افزایش سن، سیر صعودی طی می کند و با سطح اجتماعی - اقتصادی افراد ارتباط دارد (۵). در جمعیتهای غربی، پس از جنگ جهانی دوم، ۸۰-۱۰۰ درصد بالغین میانسال طبقات اجتماعی - اقتصادی پایین و ۳۰-۵۰ درصد بالغین طبقات بالا، واجد آنتی بادیهای ضد HSV-1 بودند (۶ و ۷). و در "آمریکا" در سال ۲۰۰۵ میلادی، ۸۰ درصد بودند (۸). شیوع سرمی آنتی بادیهای هرپس در اهدا کنندگان خون شهر کرمان در سال ۱۳۸۰ برای HSV تیپ یک ۴۹ درصد بود (۹).

نخستین گام در مطالعات اپیدمیولوژیک به دست آوردن میزان شیوع بیماری می باشد، تا پس از دستیابی به نتایج و ارائه آن به مسئولین بتوان از آنان برای اجرای طرحهای بهداشتی و برنامه ریزیهای آینده کشور استفاده نمود. نظر به اینکه هیچ مطالعه ای در این ناحیه از کشور دال بر میزان شیوع عفونت هرپس سیمپلکس تیپ ۱ و نیز نرخ تغییرات آلودگی با روند سنی و جنسی وجود نداشت، ضرورت انجام این تحقیق

احساس گردید.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی در سال ۱۳۸۵ صورت گرفت. پس از تعیین حجم نمونه، ابتدا هماهنگی های لازم با کلیه آزمایشگاههای دولتی و خصوصی در سطح شهر که مایل به همکاری بودند به عمل آمد و تعداد ۴۰۶ نفر از بین آنها به طور تصادفی انتخاب گردیدند. بیمارانی که مبتلا به کانسر، بیماری های نقص ایمنی یا بیمار های حاد بودند، از مطالعه حذف گردیدند. مبنای تشخیص بیماری، خود اظهاری افراد بود. نمونه های خون وریدی که از نظر گروههای سنی مختلف، جنسیت و قومیت شرایط لازمه را دارا بودند، از ۱۰ آزمایشگاه در سطح شهر گرگان تهیه شد. سرم ها در همان آزمایشگاه از لخته جدا و در لوله های درب دار جمع آوری گردید. ضمناً پرسشنامه ای حاوی اطلاعات دموگرافیک تهیه و همراه با رضایت کتبی بیمار، برای هر فرد تکمیل شد. سپس نمونه ها به همراه پرسشنامه ها به طور روزانه به آزمایشگاه تحقیقات بالینی دانشکده پیرایشکی منتقل و در فریزر منهای ۳۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. پس از جمع آوری کامل نمونه ها، توسط کیت های شرکت ایتالیایی Diagnosis Diapro (با حساسیت و ویژگی ۹۸ درصد) با روش الیزا از نظر وجود آنتی بادیهای ضد HSV-1 از کلاسه های IgM و IgG بررسی شدند. ابتدا برای تمامی نمونه ها جستجوی آنتی بادی HSV-1 از کلاس IgG انجام گردید، سپس برای نمونه هایی که نتایج منفی نشان دادند، بررسی آنتی بادی از کلاس IgM صورت گرفت. نتایج آزمایش ها و اطلاعات پرسشنامه ها وارد رایانه گردید و با SPSS 11.5 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. در این مطالعه عمدتاً از آزمون کای دو و آزمونهای ناپارامتری (کروس کال والیس و من ویت نی) استفاده شد.

توضیح برای تعیین حجم نمونه: با توجه به مطالعات قبلی و مقالات مشابه و با در نظر گرفتن میزان شیوع برآوردی ۵۰٪، $Z=1.96$ ، $P=0.05$ ، $d=0.02$ با استفاده از فرمول: $n = pqz^2/d^2$ با ۵٪ خطا، حجم نمونه ۴۰۰ برآورد گردید که برای افزایش توان آزمون ۴۰۶ در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج مطالعه نشان داد سن افراد بین ۱ تا ۸۳ سال و با میانگین سنی ۲۴/۸۵ سال بود که از این تعداد ۲۰۴ نفر مرد (۵۰/۲٪) و ۱۷۹ نفر (۴۴/۱٪) متاهل بودند. از نظر قومیت، فارس ها ۱۴۹ نفر (۳۶/۵٪)، سیستانی ها ۱۲۹ نفر (۳۱/۸٪) ترکمن ها ۱۲۸ نفر (۳۱/۵٪) بودند. نتایج آزمایش ها از نظر وجود آنتی بادی های ضد ویروس هرپس سیمپلکس به ترتیب Anti-HSV-1 از کلاس IgM در ۴/۷٪ افراد، و از کلاس IgG در ۴۴/۳٪ افراد، مثبت بودند.

نتایج فراوانی آنتی بادی های ضد HSV-1 از کلاس IgM&IgG بر حسب گروه های سنی مختلف جدول شماره یک نشان داده شده است.

بر اساس نتایج بررسی، در گروه های سنی ۴۱ سال به بالا نسبت به سایر گروه های سنی موارد مثبت بیشتری مشاهده شد. میزان موارد مثبت آنتی بادی ضد HSV-1 از میزان ۳۷/۵ درصد در گروه کمتر از یکساله ها شروع شد و به همین شکل با افزایش روند سنی به مقدار آن اضافه گردید تا بالاترین حد آن در گروه سنی بیشتر از ۴۱ ساله ها که به ۵۲/۷ درصد رسید. اختلاف آماری معنی دار بین گروه سنی و وجود Anti-HSV-1-IgG, IgM در سطح ($P < 0.05$) مشاهده نشد (جدول ۱).

۵۱/۵ درصد از افرادی را که دارای آنتی بادی ضد HSV-1 بودند، مردان تشکیل می دادند، ولی بین جنسیت و وجود آنتی بادی اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

جدول شماره ۱- توزیع فراوانی Anti-HSV-1-IgG, IgM بر حسب گروه های جنسی

Anti-HSV-1-IgG, IgM			سن (سال)
کل (تعداد/ درصد)	منفی (تعداد / درصد)	مثبت (تعداد / درصد)	
(۳/۹۴)۱۶	(۶۲/۵)۱۰	(۳۷/۵)۶	۱ >
(۱۰/۳)۴۲	(۶۴/۳)۲۷ (۴۷)۴۵	(۳۷/۷)۱۵	۱-۶
(۱۹/۴)۷۹		(۴۳)۳۴	۷-۱۲
(۱۷/۴)۷۱	(۴۷/۹)۳۴	(۵۲/۱)۳۷	۱۳-۱۸
(۲۹/۳)۱۱۹	(۴۷/۱)۵۶	(۵۲/۹)۶۳	۱۹-۴۰
(۱۵)۶۱	(۴۴/۳)۲۷	(۵۵/۷)۳۴	۴۱-۶۴
(۴/۴۳)۱۸	(۴۴/۴)۸	(۵۵/۶)۱۰	۶۴ <
(۱۰۰)۴۰۶	(۵۱)۲۰۷	(۴۹)۱۹۹	کل

بحث

ویروس هرپس سیمپلکس قادر است در سنین مختلف ایجاد بیماری کند و سبب بروز تب خال، گاهی اوقات کوری و سقط گردد. تیپ یک HSV بیشتر به صورت تب خال، دور لبها و اعضاء فوقانی را آلوده می سازد (۱۰). نتایجی که از این طرح به دست آمد نشان داد که میزان شیوع آنتی بادی ضد HSV-1 از کلاسهای IgM و IgG به ترتیب ۴/۷٪ و ۴۴/۳٪

شیوع آنتی بادی در متاهلین ۵۳/۶ درصد و در افراد مجرد ۴۵/۴ درصد بود که این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود ($P < 0.05$).

توزیع موارد مثبت در بین سه قومیت فارس، ترکمن و سیستانی از نظر آماری تفاوت معنی داری نشان نداد (جدول ۲).

جدول شماره ۲- توزیع فراوانی Anti-HSV-1-IgG,IgM بر حسب متغیرهای تحت بررسی (جنس، قومیت و تأهل)

Anti-HSV-1-IgG,IgM			متغیرهای تحت بررسی	
کل (تعداد/ درصد)	منفی (تعداد / درصد)	مثبت (تعداد / درصد)		
(۵۰/۲)۲۰۴	(۴۸/۵)۹۹	(۵۱/۵)۱۰۵	جنس	مرد
				زن
(۴۹/۸)۲۰۲	(۵۳/۵)۱۰۸	(۴۶/۵)۹۴	قومیت	فارس
				سیستانی
(۳۶/۴)۱۴۸	(۵۰/۷)۷۵	(۴۹/۳)۷۳	وضعیت تأهل	ترکمن
				مجرد
(۳۱/۷)۱۲۹	(۴۹/۶)۶۴	(۵۰/۴)۶۵		متأهل
(۳۱/۵)۱۲۸	(۵۳/۱)۶۸	(۴۶/۹)۶۰	کل	
(۵۵/۹)۲۲۷	(۵۴/۶)۱۲۴	(۴۵/۴)۱۰۳		
(۴۴/۱)۱۷۹	(۴۶/۴)۸۳	(۵۳/۶)۹۶		
(۱۰۰)۴۰۶	(۵۱)۲۰۷	(۴۹)۱۹۹		

میزان از ۳۷٪ در گروه کمتر از یکساله ها به بالاترین حد یعنی ۵۵/۶٪ در گروه بیش از ۶۴ ساله ها رسیده ولی این روند رو به رشد اختلاف آماری معنی داری را بین گروه های سنی نشان نمی دهد. در تحقیقاتی که سایر محققین اجرا کرده اند، نظیر سولیکوی در ایتالیا (۱۱)، تونباک در سوئد (۱۶)، ووتزلر (۳) و رابنا در آلمان (۱۷)، بونزلی در سوئیس (۱۰) و آستین در آمریکا (۱۵) روند افزایشی معنی دار وجود داشته است. همان طوری که ملاحظه می شود این روند در تمامی تحقیقات، مخصوصاً در گروه سنی ۱۹-۴۰ رو به افزایش است که به نظر می رسد ناشی از برخورد بیشتر این گروه سنی با جنس مخالف باشد.

یافته های طرح نشان می دهد، ۵۲/۸٪ را مردان و ۴۷/۲٪ را زنان از نظر آنتی بادی ضد HSV-1 به خود اختصاص داده اند. با این که مردان درصد بالاتری را نسبت به زنان نشان داده اند این اختلاف معنی دار نبوده است. سایر محققین مانند کائر در هند (۱۸)، اوسلندر در آمریکا (۱۲)، هاشیدو در ژاپن (۱۹)، میزان موارد مثبت را در مردان بیش از زنان به دست آورده اند، اما برعکس در مطالعات تنگ در سنگاپور (۲۰)، رابنا در آلمان (۱۷)، کوتکانگاس در فنلاند (۲)، شیوع آنتی بادی در

(مجموعاً ۴۹٪) بود. این مقدار در طرحی که دکتر عرب زاده روی اهدا کنندگان خون ۱۵-۴۵ ساله کرمانی انجام داد، ۴۹٪ به دست آمد (۹) که در مقایسه با این طرح در سنین یاد شده، نتایج مشابهی را نشان می دهد. همچنین در مطالعه ای که روی افراد ۱۱-۱۷ ساله های ایتالیایی صورت گرفت، ۵۱/۶٪ بوده است (در این طرح در گروه سنی یاد شده ۵۲/۱٪ به بدست آمده است) (۱۱). در تحقیقات مختلفی که در آمریکا انجام یافته، نتایج گوناگونی عاید گردیده است. مثلاً اوسلندر با مطالعه روی مردان و زنان بالغ آمریکایی آن را ۵۰٪ (۱۲)، روزنتال در افراد ۱۲-۲۲ ساله آمریکایی ۶۲٪ (۱۳)، مارک در بین دانشجویان آمریکایی فاقد سابقه هریس ژنیتال ۴۸٪ (۱۴) همچنین آدلسون در بالغین آمریکایی ۸۰٪ (۸) و آستین در مراجعه کنندگان به درمانگاه بیماریهای مقاربتی ۷۲٪ گزارش نموده است (۱۵).

تفاوت در تیر آنتی بادی در نقاط مختلف متناسب با فرهنگ، آداب اجتماعی و موقعیت اجتماعی و سنی گروههای مورد بررسی متفاوت است.

بر اساس نتایج، میزان آنتی بادی ضد HSV-1 در گروههای سنی مختلف با بالا رفتن سن افزایش می یابد و این

نشان داده اند اختلاف معنی دار آماری بین آنها وجود نداشته است.

از نتایج به دست آمده می توان استنباط نمود که حدود نیمی از افراد جامعه در این منطقه با این ویروس تماس داشته و حامل آن می باشند. بر خلاف کشورهای پیشرفته صنعتی که این عفونت در بیشتر موارد از سنین بلوغ و شروع فعالیت جنسی اتفاق می افتد، در این منطقه در حدود ۳۵٪ موارد، حتی در افراد کمتر از یک سال نیز می توان عفونت را مشاهده نمود که خود توصیه های بهداشتی لازم را طلب می کند. از طرفی محدودیت مطالعه و گرفتن نمونه از افراد مراجعه کننده به درمانگاه نشانگر کل جامعه نمی باشد و برای تبیین نتیجه، لازم است مطالعاتی در سطح وسیع تر و با تعداد نمونه های بیشتر صورت گیرد.

References

- 1- Kimberlin DW, Whitley RJ. Neonatal herpes: what have we learned. *Semin pediatr Infect Dis.* 2005; 16(1):7-16.
- 2-Kortekangas-Savolainen O, Vuorinen T. Trends in herpes simplex virus type 1 and 2 infections among patients diagnosed with genital herpes in a Finnish sexually transmitted disease clinic, 1994-2002. *Sex Transm Dis.* 2007 Jan; 34(1):37-40. , Finland.
- 3-Wutzler P, Doerr HW, Farber I, Eichhorn U, Helbig B, Sauerbrei A, Brandstadt A, Rabenau HF. Seroprevalence of herpes simplex virus type 1 and type 2 in selected German populations-relevance for the incidence of genital herpes. *Med Virol.* 2000;61(2):201-7.
- 4-Mihret W, Rinke de Wit TF, Petros B, Mekonnen Y, Tesegaye A, Wolday D, Beyene A, Aklilu M, Sanders E, Fontanet AL. Herpes simplex virus type 2 seropositivity among urban adults in Africa: results from two cross-sectional surveys in Addis Ababa, Ethiopia. *Sex Transm Dis.* 2002; 29(3):175-81.
- 5-Wagner HU, Van Dyck E, Roggen E, Nunn AJ, Kamali A, Schmid DS, Dobbins JG, Mulder DW. Seroprevalence and incidence of sexually transmitted diseases in a rural population. *Int J STD AIDS.* 1994;5(5):332-7.
- 6-Rowls WE, Iwamoto K, Adam E, Melnick JL. Measurement of antibodies to Herpes simplex Virus Type 1 and 2 in human sera. *J Immunol* 1998; 104- 599.
- 7-Oberel M, Rosero, Bixby L, Lee FK. Herpes Simplex Virus Type 2 antibodies: High prevalence in monogamous women in Costa Rica. *Am J Trop Med Hyg.* 1992; 41: 224.
- 8-Adelson ME, Feola M, Trama J, Tilton RC, Mordechai E. Simultaneous detection of herpes simplex virus type 1 and 2 by real-time PCR and pyrosequencing. *Clin virol.* 2005; 33(1):25-34.

زنان در صد بالاتری را نسبت به مردان نشان داده است. در هیچ یک از این موارد اختلاف آماری معنی داری مشاهده نشده است. بالا بودن میزان شیوع آنتی بادی های ضد HSV-1 در مردان و زنان سایر کشورها در مقایسه با نتایج این مطالعه ممکن است مرتبط با فرهنگ اجتماعی و شیوه زندگی افراد باشد.

نتایج طرح نشان داد قومیت (فارس، ترکمن و سیستانی) تأثیری در مثبت بودن آزمایش از نظر وجود آنتی بادی های ضد HSV-1 نداشته است. اما گایتنت در هلند (۲۱) و آستین در آمریکا اختلاف آماری معنی داری را در قومیت های مختلف مشاهده نموده اند (۱۵).

وضعیت تأهل، در نتایج به دست آمده، گرچه حاکی از این است که متأهلین در صد بالاتری را از نظر نتایج مثبت

- 9- Arabzadeh AM, Fekri AR, Shamsadini S, Zohoor AR. The prevalence of HSV2 antibodies in Blood Transfusion Department (2002) from university of medical sciences. *Journal of Kerman University of Medical Sciences.* 2003;1(10): 59-53
- 10-Bünzli D, Wietlisbach V, Barazzoni F, Sahli R, Meylan PR. Seroepidemiology of Herpes Simplex virus type 1 and 2 in Western and Southern Switzerland in adults aged 25-74 in 1992-93: a population-based study. : *BMC Infect Dis.* 2004 7; 4:10.
- 11-Suligo B, Torri A, Grillim G, Tanzi E, Palu G. Seroprevalence and seroincidence of herpes simplex virus type 1 and herpes simplex type 2 infectious in a cohort of adolescence in Italy. *Sex Transm Dis.* 2004;31(10):1608-10.
- 12-Auslander BA, Biro FM, Rosenthal SL. Genital herpes in adolescents. *Semin Pediatr Infect Dis.* 2005 Jan; 16(1):24-30.
- 13-Rosenthal SL, Stanberry LR, Biro FM, Slaoui M, Francotte M, Koutsoukos M, Hayes M, Bernstein DI. Seroprevalence of herpes simplex virus types 1 and 2 and cytomegalovirus in adolescents. *Clin Infect Dis.* 1997 Feb; 24(2):135-9. USA.
- 14-Mark HD, Nanda JP, Roberts J, Rompalo A, Melendez JH, Zenilman J. Performance of Focus ELISA Tests for HSV-1 and HSV-2 Antibodies Among University Students With No History of Genital Herpes. *Sex Transm Dis.* 2007 Apr 20; Baltimore, Maryland. Epub ahead of print
- 15-Austin H, Macaluso M, Nahmias A, Lee FK, Kelaghan J, Fleenor M, Hook EW. Correlates of herpes simplex virus seroprevalence among women attending a sexually transmitted disease clinic. *Sex Transm Dis.* 1999 Jul; 26(6):329-34. USA.

16-Tunback P, Bergtrom T, Andersson AS, Nordin P, Krantz I, Lowhagen GB. Prevalence of herpes simplex virus antibodies in childhood and adolescence: a cross-sectional study. *Scand J Infect Dis.* 2003; 35(8): 498-502.

17-Rabenau HF, Buxbaum S, Preiser W, Weber B, Doerr HW. Seroprevalence of herpes simplex virus types 1 and type 2 in the Frankfurt am Main area, Germany. *Med Microbiol Immunol.* 2002 Mar; 190(4):153-60.

18-Kaur R, Gupta N, Baveja UK. Seroprevalence of HSV1 and HSV2 infections in family planning clinic attenders. *J Commun Dis.* 2005 Dec; 37(4):307-9. New Delhi

19-Hashido M, Kawana T, Matsunaga Y, Inouye S. Changes in prevalence of herpes simplex virus type 1 and 2 antibodies from 1973 to 1993 in the rural districts of Japan. *Microbiol Immunol.* 1999; 43(2):177-80. , Tokyo, Japan.

20-Theng CT, Sen PR, Chio TW, Tan HH, Wong ML, Chan RK. Seroprevalence of herpes simplex virus-1 and -2 in attendees of a sexually transmitted infection clinic in Singapore. *Sex Health.* 2006 Dec; 3(4):269-74. Singapore

21-Gaytant MA, Steegers EA, van Laere M, Semmekrot BA, Groen J, Weel JF, van der Meijden WI, Boer K, Galama JM. Seroprevalences of herpes simplex virus type 1 and type 2 among pregnant women in the Netherlands. *Sex Transm Dis.* 2002 Nov; 29(11):710-4. The Netherlands.