

فراوانی عفونت نهفته ویروس هپاتیت B در بیماران همودیالیزی

آمیثیس رضانی^۱، محمد بنی فضل^۲، ابراهیم کلانتر^۳، فرخ لقا احمدی^۴، عفت رازقی^۴، علی اسلامی فر^۵، شهناز اتابک^۶، منوچهر امینی^۴، لطیف گچکار^۷، اکبر خادم صادق^۸ و آرزو آقاخانی^{۵*}

۱. متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری، استادیار انستیتو پاستور ایران
۲. متخصص اطفال، انجمن حمایت از بیماران عفونی کشور
۳. دکترای علوم آزمایشگاهی، مربی دانشگاه علوم پزشکی ایران
۴. فوق تخصص نفرولوژی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی تهران
۵. پاتولوژیست، استادیار انستیتو پاستور ایران
۶. فوق تخصص نفرولوژی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۷. متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری، استاد مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۸. کارشناس آزمایشگاه، انستیتو پاستور ایران

* نشانی برای مکاتبه: تهران، خیابان پاستور، انستیتو پاستور ایران، گروه تحقیقات بالینی، تلفن: ۰۲۱۶۶۴۶۵۱۴۷، نمابر ۰۲۱۶۶۴۶۵۱۴۷،
aaghakhani@pasteur.ac.ir
دریافت مقاله: آبان هشتاد و هفت پذیرش برای چاپ: دی هشتاد و هفت

چکیده

سابقه و هدف: عفونت نهفته ویروس هپاتیت B (*Occult HBV infection*) به موارد عفونت HBV با HBsAg غیر قابل شناسایی در خون اطلاق می شود. عفونت نهفته HBV عامل خطر بالقوه برای انتقال HBV از طریق همودیالیز می باشد. گاهی الگوی سرولوژیک anti-HBc ایزوله (بدون حضور HBsAg و anti-HBs) به عنوان تنها نشانگر عفونت مزمن HBV مطرح می گردد. هدف از این مطالعه تعیین فراوانی عفونت نهفته ویروس هپاتیت B در بیماران همودیالیزی می باشد.

روش کار: ۲۸۹ بیمار همودیالیزی از ۵ مرکز دیالیز در شهر تهران در این مطالعه وارد شدند. در کلیه بیماران anti-HBsAg, HBsAg, anti-HBc, anti-HCV, ALT و AST اندازه گیری شد. HBV-DNA در پلاسما بیماران دارای anti-HBc ایزوله به روش real time PCR مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: از ۲۸۹ بیمار مورد مطالعه، ۱۸ نفر دارای anti-HBc ایزوله بودند (۱/۹-۳/۵٪، CI ۹۵٪، ۰/۶-۲٪) و HBV-DNA در ۹ بیمار از ۱۸ بیمار (۲۷-۷۳٪، CI ۹۵٪، ۰/۵-۵۰٪) دارای anti-HBc ایزوله شناسایی شد. HBV-DNA در پلاسما کلیه این بیماران کمتر از ۵۰ IU/ml بود.

نتیجه گیری: anti-HBc ایزوله می تواند نمایانگر عفونت نهفته HBV در بیماران همودیالیزی باشد. لذا به نظر می رسد غربالگری این دسته از بیماران در پیشگیری از انتقال عفونت HBV به سایرین مفید باشد.

واژگان کلیدی: همودیالیز، عفونت نهفته ویروس هپاتیت B

مقدمه

تغییر دهد که در سرم قابل شناسایی نباشد (۲ و ۱). بنابراین گاهی الگوی سرولوژیک anti-HBc ایزوله (بدون حضور HBsAg و anti-HBs) به عنوان تنها نشانگر عفونت مزمن HBV مطرح می گردد (۳). در تعدادی از افراد دارای این وضعیت سرولوژیک، HBV-DNA در سرم یافت می شود که می تواند عامل بالقوه انتقال HBV از طریق انتقال خون، همودیالیز و یا پیوند اعضا باشد (۷-۴).

عفونت با ویروس هپاتیت B (HBV) به طور کلاسیک با حضور HBsAg و آنتی بادی کور هپاتیت B (anti-HBc) تعریف می گردد. anti-HBc در فاز عفونت اولیه ظاهر شده و به صورت نامحدود بعد از پاک شدن آنتی ژن باقی می ماند. به نظر می رسد جایگزینی نوکلئوتیدها در ژن سطحی HBV می تواند آنتی ژنسیته HBsAg را به گونه ای

ترتیب در ۱/۳/۱، ۲/۱/۸، ۷/۷/۵ و ۰/۳/۴٪ بیماران مثبت بودند. میانگین انزیم های کبدی ALT و AST به ترتیب ۱۶/۹ ± ۹/۸IU/l و ۱۶/۴ ± ۹/۴ بودند. ۱۸ بیمار دارای anti-HBc ایزوله بودند (۳/۵-۸/۹ CI، ۰/۹۵، ۰/۶/۲). مشخصات بیماران دارای anti-HBc ایزوله از نظر سن، جنس، مدت دیالیز و سطوح ALT و AST در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱: مشخصات بیماران دارای anti-HBc ایزوله

مشخصات بیماران	مقادیر
جنس (مذکر/مونث)	۷/۱۱
سن (سال)	۵۹/۶ ± ۱۵
ALT (IU/l)	۲۱/۱ ± ۱۵/۲
AST (IU/l)	۲۱/۱ ± ۱۴/۵
Anti-HCV (+)	۱ (۵/۵۵٪)
مدت زمان دیالیز (سال)	۳/۵ ± ۴/۴

HBV-DNA در ۹ بیمار از ۱۸ بیمار (۲۷-۲۳٪، CI، ۰/۵۰، ۰/۹۵) دارای anti-HBc ایزوله شناسایی شد. سن متوسط این افراد ۶۶/۳ ± ۱۴/۳ سال بود. ۵ نفر (۵۵/۵٪) از این بیماران مرد و ۴ نفر (۴۴/۵٪) زن بودند. مدت زمان دیالیز در این بیماران ۲/۶ ± ۱/۲ سال بود. میانگین انزیم های کبدی ALT و AST به ترتیب ۲۱/۳ ± ۱۷/۶ IU/l و ۲۱/۱ ± ۱۸/۱ بود. سطح HBV-DNA در تمام بیماران کمتر از ۵۰ IU/ml بود. تنها یکی از بیماران anti-HCV مثبت بوده و هیچیک از بیماران عفونت HIV نداشت. اختلاف معنی داری بین بیماران HBV-DNA مثبت و منفی از نظر سن، جنس، مدت دیالیز و سطوح ALT و AST مشاهده نشد.

بحث

در این مطالعه میزان عفونت نهفته HBV در بیماران همودیالیزی دارای anti-HBc ایزوله بررسی شده است. HBV-DNA در ۵۰٪ این بیماران یافت شد. بررسی ما نشان داد که عفونت نهفته HBV در بیماران همودیالیزی دارای anti-HBc ایزوله علیرغم سن، جنس، سطوح امینوترانسفرازها و طول مدت دیالیز شایع می باشد. تئوری های متعددی در مورد مکانیسم های احتمالی عدم شناسایی HBSAg در حضور ویرومی HBV در سرم مطرح می باشد از جمله موتاسیون های موجود در ناحیه pre-S و S ژنوم ویروس، کاهش viral load و حساسیت ناکافی تست های موجود برای شناسایی HBSAg (۱۰).

در مطالعات مختلف شیوع عفونت نهفته HBV در بیماران همودیالیزی بین صفر تا ۵۸٪ گزارش شده است (۱۴-۱۱). در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۶ توسط Yakaryilmaz و همکاران بر روی ۱۸۸ بیمار همودیالیزی انجام شد anti-HBc ایزوله در ۶/۴٪ بیماران و HBV-DNA در ۲/۷٪ آنها گزارش شد (۱۵). در مطالعه ای دیگر توسط Siagris در سال ۲۰۰۶ HBV-DNA در ۲۰/۴٪ بیماران همودیالیزی مشاهده گردید (۱۶). Cabrerizo و همکاران (۱۲) شیوع ویرومی HBV در بیماران همودیالیزی را ۵۸٪ و Joller-Jemelka و همکاران این میزان را ۴۰٪ گزارش نمودند (۱۳). Minuk این میزان را در امریکای شمالی ۳/۱٪ گزارش کرد. وی بیان کرد که شیوع ویرومی HBV در بیماران همودیالیزی ۴ تا ۵ برابر بیشتر از آنچه می باشد که تستهای استاندارد تشخیص HBSAg نشان می دهند (۹).

این نوع عفونت از جنبه های مختلف بالینی حائز اهمیت است. اولاً می تواند عاملی برای بیماری های کبدی کریپتوزئیک که به سمت هیپاتیت مزمن B، کارسینوم کبد و یا حتی هیپاتیت فولمینانت پیش می روند باشد. ثانیاً می تواند عامل بالقوه انتقال HBV از طریق انتقال خون، همودیالیز و یا پیوند اعضا باشد (۷-۴، ۲). تاکنون مطالعات اندکی بر روی شیوع عفونت نهفته HBV در بیماران همودیالیزی انجام شده و اپیدمیولوژی این عفونت در این بیماران به خوبی مشخص نگردیده است. عفونت نهفته HBV غالباً در بیمارانی دیده می شود که دارای anti-HBc به عنوان تنها نشانگر سرولوژیک HBV بوده اند (۸).

با توجه به اینکه بیماران همودیالیزی در خطر ابتلا به HBV بوده و میزان پاسخ به واکسن نیز در این بیماران پایین می باشد لذا شناسایی ویرومی HBV در این بیماران برای کنترل انتقال این عفونت از طریق دستگاه های دیالیز و متعاقب آن انتقال به کلیه پیوندی حائز اهمیت است (۹). با توجه به اهمیت بالینی عفونت نهفته HBV در بیماران دیالیزی بر آن شدیم تا فراوانی عفونت نهفته ویروس هیپاتیت B را در بیماران همودیالیزی را تعیین نماییم.

روش کار

این مطالعه به صورت مقطعی بر روی ۲۸۹ بیمار همودیالیزی از ۵ مرکز دیالیز در شهر تهران انجام گرفت. پس از اخذ رضایت نامه و تکمیل فرم اطلاعاتی شامل مشخصات دموگرافیک از بیماران، نمونه خون گرفته شد. HBSAg و anti-HBs (Hepatitis B surface antibody) توسط روش الایزا با استفاده از کیت (Hepanostika bioMerieux, Biorad, Segrate, Italy) و anti-HCV (Hepatitis C virus) (Boxtel, Netherlands) و anti-HBc (antibody) به ترتیب با استفاده از کیت های الایزا (Dia-Pro Diagnostic, Milano, Italy) و (Biorad, Segrate, Italy) بررسی شدند. ALT و AST بیماران نیز اندازه گیری شد. anti-HIV با روش الایزا (MP Biomedicals, Illkirch, France) بررسی گردید و نمونه های مثبت با روش وسترن بلات (Diaplus, San Francisco, USA) تایید شد. HBV-DNA با استفاده از کیت High Pure Viral Nucleic Acid kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) از نمونه ها استخراج گردید و سپس توسط real time PCR با استفاده از کیت artus HBV RG (Qiagen, Hamburg, Germany) و Rotor-Gene 3000 real-time thermal cycler (Corbett Research, Sydney, Australia) به صورت کمی تعیین شد. Analytical detection limit این کیت ۲۰ IU/ml بود. HBV DNA کمتر از ۵۰ IU/ml به صورت کمتر از ۵۰ IU/ml ذکر گردیده است. یافته ها با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۶ و آزمونهای آماری t و chi-square (یا تست دقیق فیشر) تجزیه و تحلیل شد و مرز معنی داری اختلافات روی ۰/۰۵ < P قرار داده شد. داده ها به صورت means ± standard deviations و در صورت لزوم عدد مطلق یا در صد گزارش شدند. ضریب اطمینان (CI) ۹۵٪ نیز محاسبه گردید.

یافته ها

۲۸۹ بیمار با میانگین سنی ۱۶ ± ۵۵ سال در این مطالعه وارد شدند. ۶۰٪ بیماران مرد و ۴۰٪ آنها زن بودند. مدت زمان دیالیز در این بیماران ۵/۱ ± ۵/۲ سال بود. anti-HBc، HBSAg، anti-HCV و anti-HIV به

ترانس آمینازها و سن و جنس بیماران با عفونت نهفته HBV مشاهده نگردید. در برخی مطالعات همراهی HCV با عفونت نهفته HBV گزارش شده است. (۲۳،۱۸). از آنجا که تنها یکی از بیماران دارای عفونت نهفته HBV در مطالعه ما به طور هم زمان الوده به HCV بوده نتیجه گیری در این مورد امکان پذیر نمی باشد.

برخی محققین گزارش کرده اند که طول مدت دیالیز در بیماران دارای عفونت نهفته HBV بیش از سایرین است. (۱۸) ولی سایر مطالعات ارتباط معنی داری بین طول مدت دیالیز و عفونت نهفته HBV گزارش نکرده اند (۲۴،۲۵). در مطالعه ما نیز ارتباط معنی داری بین طول مدت دیالیز و عفونت نهفته HBV مشاهده نگردید.

نتیجه گیری

وجود anti-HBc ایزوله می تواند نمایانگر عفونت نهفته HBV در بیماران همودیالیزی باشد. لذا به نظر می رسد غربالگری این دسته از بیماران در پیشگیری از انتقال عفونت HBV به سایرین مفید باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از انجمن حمایت از بیماران عفونی کشور، به جهت حمایت مالی از طرح فوق قدردانی می نمایند.

در بررسی که توسط Altindis در ترکیه بر روی بیماران همودیالیزی انجام شد ۱۲/۴٪ بیماران دارای ویرومی HBV بودند. (۱۷). در مطالعه دیگری توسط Goral در این کشور این میزان صفر گزارش شد (۱۱). در مطالعه ای که توسط Fabrizi بر روی ۵۸۵ بیمار همودیالیزی در ایتالیا صورت گرفت ۱۱ نفر (۱/۸۸٪) دارای Anti-HBc ایزوله بودند که در هیچیک از آنها HBV-DNA یافت نشد (۱۸).

Wei و همکاران نشان دادند ۱۴٪ بیماران همودیالیزی دارای عفونت نهفته HBV بودند (۱۹). در مطالعه ما ۵۰٪ بیماران همودیالیزی دارای anti-HBc ایزوله دارای HBV-DNA بودند. این تفاوت در شیوع عفونت نهفته HBV در بیماران همودیالیزی می تواند به دلیل شیوع متفاوت عفونت HBV در کشورهای مختلف باشد همچنین تفاوت در حساسیت روش های بکار برده شده و تعداد و مشخصات دموگرافیک جمعیت مورد مطالعه نیز از دیگر عوامل ایجاد این اختلافات می باشد.

اختلالات انزیم های کبدی در بیماران دارای عفونت نهفته HBV شایع نمی باشد (۲۰). به طور کلی سطوح ترانس آمینازها در بیماران همودیالیزی پایین می باشد و این مسئله تشخیص ضایعات کبدی بر اساس تست های بیوشیمیایی کبد را مشکل می کند (۹). همچنین عدم ارتباط بین مشخصات دموگرافیک و یافتن HBV-DNA در سرم یافته شایعی می باشد و در مطالعات مختلف ارتباطی بین عفونت نهفته HBV و سن و جنس مشاهده نشده است (۲۱،۲۲). در مطالعه ما نیز ارتباطی بین سطوح

REFERENCES

1. Seddigh-Tonekaboni S, Waters JA, Jeffers S, Gehrke R, Ofenloch B, Horsch A, et al. Effect of variation in the common "a" determinant on the antigenicity of hepatitis B surface antigen. *J Med Virol* 2000; 60:113-121.
2. Weinberger KM, Bauer T, Bohm S, Jilg W. High genetic variability of the group-specific a-determinant of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) and the corresponding fragment of the viral polymerase in chronic virus carriers lacking detectable HBsAg in serum. *J Gen Virol* 2000; 81:1165-1174.
3. Grob P, Jilg W, Bornhak H, Gerken G, Gerlich W, Gunther S, et al. Serological pattern "anti-HBc alone" Report on a workshop. *J Med Virol* 2000; 62:450-455.
4. Zhang YY, Nordenfelt E, Hansson BG. Increasing heterogeneity of the 'a' determinant of HBsAg found in the presumed late phase of chronic hepatitis B virus infection. *Scand J Infect Dis* 1996; 28: 9-15
5. Liang TJ, Baruch Y, Ben-Porath E, Enat R, Bassan L, Brown NV, et al. Hepatitis B virus infection in patients with idiopathic liver disease. *Hepatology* 1991; 13: 1044-1051
6. Chung HT, Lai CL, Lok AS. Pathogenic role of hepatitis B virus in hepatitis B surface antigen-negative decompensated cirrhosis. *Hepatology* 1995; 22: 25-29
7. Paterlini P, Gerken G, Nakajima E, Terre S, D'Errico A, Grigioni W, et al. Polymerase chain reaction to detect hepatitis B virus DNA and RNA sequences in primary liver cancers from patients negative for hepatitis B surface antigen. *N Engl J Med* 1990; 323: 80-85

8. Chemin I, Zoulim F, Merle P, Arkhis A, Chevallier M, Kay A, et al. High incidence of hepatitis B infection among chronic hepatitis cases of unknown aetiology. *J Hepatol* 2001; 34: 447–454.
9. Minuk GY, Sun DF, Greenberg R, Zhang M, Hawkins K, Uhanova J, et al. Occult hepatitis B virus infection in a North American adult hemodialysis patient population. *Hepatology*. 2004; 40(5):1072-7
10. Kaviani MJ, Behbahani B, Mosallaii MJ, Sari-Aslani F, Taghavi SA. Occult hepatitis B virus infection and cryptogenic chronic hepatitis in an area with intermediate prevalence of HBV infection. *World J Gastroenterol*. 2006;12(31):5048-50
11. Goral V, Ozkul H, Tekes S, Sit D, Kadiroglu AK. Prevalence of occult HBV infection in haemodialysis patients with chronic HCV. *World J Gastroenterol*. 2006 ;12(21):3420-4
12. Cabrerizo M, Bartolome J, De Sequera P, Caramelo C, Carreno V. Hepatitis B virus DNA in serum and blood cells of hepatitis B surface antigen negative hemodialysis patients and staff. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8:1443–1447.
13. Joller-Jemelka HI, Wicki AN, Grob PJ. Detection of HBs antigen in “anti-HBc alone” positive sera. *J Hepatol* 1994; 21:269 –272.
14. Oesterreicher C, Hammer J, Koch U, Pfeffel F, Sunder-Plassmann G, Petermann D, Muller C. HBV and HCV genome in peripheral blood mononuclear cells in patients undergoing chronic hemodialysis. *Kidney Int* 1995; 48:1967–1971.
15. Yakaryilmaz F, Gurbuz OA, Guliter S, Mert A, Songur Y, Karakan T, et al. Prevalence of occult hepatitis B and hepatitis C virus infections in Turkish hemodialysis patients. *Ren Fail*. 2006;28(8):729-35
16. Siagris D, Christofidou M, Triga K, Pagoni N, Theocharis GJ, Goumenos D, et al. Occult hepatitis B virus infection in hemodialysis patients with chronic HCV infection. *J Nephrol*. 2006; 19(3):327-33.
17. Altindiş M, Uslan I, Cetinkaya Z, Yüksel S, Ciftçi IH, Demirtürk N, et al. Investigation of hemodialysis patients in terms of the presence of occult hepatitis B. *Mikrobiyol Bul*. 2007;41(2):227-33.
18. Fabrizi F, Messa PG, Lunghi G, Aucella F, Bisegna S, Mangano S, et al. Occult hepatitis B virus infection in dialysis patients: a multicentre survey. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005; 21(11):1341-7.
19. Wei L, Wang M, Zhang Q. Detection of serum HCV RNA and HBV DNA in patients on hemodialysis. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*. 1996; 35(11):753-5
20. Cohen GA, Goffinet JA, Donabedian RK, Conn HD. Observations on decreased serum glutamic oxalacetic transaminase (SGOT) activity in azotemic patients. *Ann Int Med* 1976; 84:275–280.
21. Fabrizi F, Lunghi G, Alongi G, Aucella F, Barbisoni F, Bisegna S, et al. Kinetics of hepatitis B virus load and haemodialysis: a prospective study. *J Viral Hepat*. 2008 Jul 28. [Epub ahead of print].
22. Brechot C, Thiers V, Kremsdorf D, Nalpas B, Pol S, Paterlini-Brechot P. Persistent hepatitis B virus infection in subjects without hepatitis B surface antigen: clinically significant or purely "occult"? *Hepatology* 2001;34: 194-203
23. Wands JR, Fujita YK, Isselbacher KJ, Schellekens H, Dazza MC, Thiers V, et al. Identification and transmission of a hepatitis B virus related variants. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83:312:270 –276.
24. Kanbay M, Gur G, Akcay A, Selcuk H, Yilmaz U, Arslan H, et al. Is hepatitis C virus positivity a contributing factor to occult hepatitis B virus infection in hemodialysis patients? *Dig Dis Sci*. 2006; 51(11):1962-6.
25. Besisik F, Karaca C, Akyüz F, Horosanli S, Onel D, Badur S, et al. Occult HBV infection and YMDD variants in hemodialysis patients with chronic HCV infection. *J Hepatol*. 2003;38(4):506-10