

## شیوع سرمی ویروس هپاتیت G بیماران HIV مثبت آلوده شده از راه تزریقی و جنسی

آمیتیس رضانی<sup>۱</sup>، محمد بنی فضل<sup>۲</sup>، علی اسلامی فر<sup>۳</sup>، لطیف گچکار<sup>۴</sup> و آرزو آفاخانی<sup>۳\*</sup>

۱. متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری، استادیار انستیتو پاستور ایران

۲. متخصص اطفال، انجمن حمایت از بیماران عفونی کشور

۳. پاتولوژیست، استادیار انستیتو پاستور ایران

۴. متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری، استاد مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

\*نشانی برای مکاتبه: تهران، خیابان پاستور، انستیتو پاستور ایران، گروه تحقیقات بالینی، تلفن: ۰۲۱۶۶۴۶۵۱۴۷، نمابر ۰۲۱۶۶۴۶۵۱۴۷

aaghakhani@pasteur.ac.ir

پذیرش برای چاپ: اردیبهشت هشتاد و هشت

دریافت مقاله: بهمن هشتاد و هفت

### چکیده

**سابقه و هدف:** ویروس هپاتیت G (HGV) اغلب از طریق راههای تزریقی منتقل می گردد، گرچه شواهد دیگری دال بر انتقال این ویروس از طریق جنسی نیز وجود دارد. به دلیل مطالعات متناقضی که در رابطه با روش انتقال HGV وجود دارد، بران شدیم تا شیوع عفونت HGV در ۲ گروه از بیماران HIV مثبت شامل معتادین به مواد مخدر تزریقی (IDU) و گروهی که از طریق جنسی آلوده شده اند را مقایسه نماییم.

**روش کار:** وجود HGV-RNA در سرم ۸۲ بیمار HIV مثبت شامل ۵۲ IDUs و ۳۰ بیمار آلوده شده از راه جنسی به روش reverse transcriptase-nested polymerase chain reaction بررسی شد. در کلیه بیماران تعداد سلول های CD4، anti-HBs، anti-HCV و HCV viral load تعیین شد.

**یافته ها:** شیوع کلی HGV-RNA در بیماران ۱۰/۹۷٪ بود و اختلاف معنی داری از این نظر بین ۲ گروه مشاهده نگردید (۱۳/۵٪ در گروه IDU در برابر ۶/۷٪ در گروه جنسی). بین بیماران IDU و منتقله از راه جنسی از نظر سن، میانگین سلول های CD4، عفونت همزمان با ویروس هپاتیت B اختلاف معنی داری مشاهده نشد ولی اختلاف معنی داری بین این ۲ گروه از نظر جنس و الودگی همزمان با ویروس هپاتیت C مشاهده شد.

**نتیجه گیری:** این مطالعه نشان داد الودگی با HGV در بیماران HIV مثبت نسبتا شایع است و شیوع HGV-RNA در معتادین به مواد مخدر تزریقی بیشتر از مبتلایان از راه جنسی می باشد.

**واژگان کلیدی:** ویروس نقص ایمنی انسانی (HIV)، ویروس هپاتیت G (HGV)

### مقدمه

ویروس هپاتیت G (HGV) از خانواده فلاوی ویروسها بوده و ۲۶٪ هومولوژی با ویروس هپاتیت C دارد (۱). گرچه ثابت شده که HGV اغلب از طریق راههای تزریقی منتقل می گردد و در معتادین به مواد مخدر تزریقی (IDU)، بیماران HIV مثبت، گیرندگان خون و بیماران مبتلا به تالاسمی، بیماران تحت دیالیز و مبتلایان به هموفیلی که خون و فرآورده های آن را به طور مکرر دریافت می کنند بیشتر مشاهده می شود (۲)، شواهد دیگری دال بر انتقال این ویروس از طریق جنسی و سطوح مخاطی آلوده نیز وجود دارد (۳).

Ramia و همکاران گزارش کردند که شیوع عفونت HGV در هر ۲ گروه معتادین تزریقی و بیماریهای منتقله از راه جنسی نسبتا بالا بوده و

اختلاف معنی داری بین این ۲ گروه مشاهده نمی گردد (۴). Bourlet و همکاران ۸۰ بیمار HIV مثبت را بر اساس راه اصلی انتقال HIV به ۴ گروه تقسیم کردند: گروه ۱ دریافت کنندگان محصولات خونی، گروه ۲ معتادین تزریقی، گروه ۳ افراد هموسکسوال و گروه ۴ افراد هتروسکسوال. آنها اختلاف معنی داری بین شیوع HGV در این ۴ گروه مشاهده نکردند (۵). در حالیکه مطالعات دیگر بر شیوع بالای HGV در افراد هموسکسوال و هتروسکسوال تاکید کرده اند (۶، ۷). به دلیل مطالعات متناقضی که در رابطه با روش انتقال HGV وجود دارد، بران شدیم تا شیوع عفونت HGV در ۲ گروه از بیماران HIV مثبت شامل IDUs و گروهی که از طریق جنسی آلوده شده اند را مقایسه نماییم.

## روش کار

HIV Viral load بیماران  $10 \log_{10} 1/77 \pm 2/04$  بود. شیوع HGV در این بیماران  $1/67$  و میانگین سلول های CD4،  $358/6 \pm 119/1 \text{ cells/mm}^3$  بود. بین بیماران IDU و منتقله از راه جنسی از نظر سن، HIV Viral load، میانگین تعداد سلول های CD4 و عفونت همزمان با ویروس هپاتیت G و B اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ولی اختلاف معنی داری بین این ۲ گروه از نظر جنس و الودگی همزمان با ویروس هپاتیت C مشاهده شد ( $P < 0/001$ ).

## بحث

در این مطالعه شیوع HGV در ۲ گروه از بیماران HIV مثبت بررسی گردید و نتایج آن نشان داد که آلودگی با HGV به طور شایع تر در گروه IDU مشاهده می گردد هر چند اختلاف بین این دو گروه معنی دار نبود. HGV ویروس منتقله از راه خون و راه جنسی می باشد لذا شیوع آن در افراد HIV مثبت بالا است (۹۸). عفونت HGV در افراد سالم از نظر ایمنی و حتی افراد دارای نقص ایمنی از نظر بالینی خوش خیم می باشد (۸، ۱۰ و ۱۱). ویروس هپاتیت G می تواند هپاتیت خفیف توام با استئاتوز در بعضی بیماران ایجاد کند و در بیوپسی کبد این بیماران التهاب در اطراف ورید پورت گزارش شده است (۲). در مطالعه Campo و همکاران  $32/4\%$  بیماران HIV مثبت دارای عفونت همزمان با HGV بودند و HGV در بیماران HIV مثبت IDU شایع تر بود (۱۲). در مطالعه Frey و همکاران بر روی بیماران دارای بیماری های منتقله از راه جنسی و فاقد آن از نظر شیوع HGV نشان داده شد که عفونت HGV در بیماران مبتلا به بیماری های منتقله از راه جنسی بیشتر است (۱۳). مطالعات دیگر نیز بر شیوع بالای HGV در افراد هموسکسوال و هتروسکسوال تاکید کرده اند (۷و۶). نتایج مطالعه Zehender نشان دهنده انتقال قابل توجه HGV در بیماران HIV مثبت IDU ایتالیایی می باشد (۱۴). در مطالعه ما شیوع کلی HGV در بیماران HIV مثبت نسبتا بالا بود و نتایج این مطالعه نشان داد که عفونت HGV به طور شایع تر در معتادین تزریقی مشاهده می گردد. یافته های ما با مطالعات Campo (۱۲) و Zehender (۱۴) همخوانی داشته ولی با گزارشات Frey (۱۳) مطابقت نمی کند. این نتایج متناقض می تواند به دلیل عوامل مختلف از جمله تعداد افراد مورد مطالعه و عوامل اجتماعی و روش زندگی این افراد باشد. بعضی مطالعات نشان داده که حمل RNA ویروس HGV با پیشرفت آهسته تر بیماری HIV توام می باشد (۱۵). در مطالعه ما  $88/9\%$  بیماران آلوده به HGV، CD4 بیشتر یا مساوی  $200 \text{ cells/mm}^3$  و  $11/1\%$  آنها CD4 کمتر از  $200 \text{ cells/mm}^3$  داشتند. با این حال به دلیل تعداد محدود بیماران در این مطالعه نتیجه گیری قطعی در مورد ارتباط ویرمی HGV و بقای طولانی تر بیماران HIV مثبت ممکن نیست. مطالعات بعدی بر روی تعداد بیشتری از بیماران برای مشخص ساختن روش انتقال HGV و اهمیت بالینی عفونت همزمان HGV در بیماران HIV مثبت توصیه می گردد.

## نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد الودگی با HGV در بیماران HIV مثبت نسبتا شایع است و شیوع HGV-RNA در معتادین به مواد مخدر تزریقی بیشتر از مبتلایان از راه جنسی می باشد. با توجه به تعداد محدود بیماران در این مطالعه نتیجه گیری قطعی در مورد ارتباط ویرمی HGV و بقای طولانی تر بیماران HIV مثبت ممکن نیست. مطالعات بعدی بر روی تعداد بیشتری از بیماران برای مشخص ساختن روش انتقال HGV و اهمیت بالینی عفونت همزمان HGV در بیماران HIV مثبت توصیه می گردد.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از انستیتو پاستور ایران به جهت حمایت مالی از طرح فوق قدردانی می نمایند.

این مطالعه مقطعی بر روی ۸۲ بیمار HIV مثبت مراجعه کننده به مرکز تحقیقات ایدز بیمارستان امام خمینی انجام گرفت. بیماران دارای ۲ تست مثبت ایلیزا (MP Biomedicals, Illkirch, France) و تست تاییدی وسترن بلات (Diaplus, San Francisco, USA) در این مطالعه وارد شدند. پس از اخذ رضایت نامه و تکمیل فرم اطلاعاتی شامل مشخصات دموگرافیک از بیماران نمونه خون گرفته شد. در کلیه بیماران HBsAg و Anti-HBs توسط روش الایزا با استفاده از کیت های (Hepanostika, bioMerieux, Boxtel, Netherlands و Anti-HCV توسط کیت (Biorad, Segrate, Italy) بررسی شدند. تست تاییدی Recombinant Immunoblot با استفاده از کیت (RIBA Innogenetics, Ghent, Belgium) انجام گرفت. در بیماران شمارش تعداد سلول های CD4 با روش فلوسیتومتری انجام شد.

تعیین viral load نمونه ها با روش real time PCR با استفاده از کیت Quantification of HIV (Primer Design Ltd, Millbrook Technology campus, Southampton, UK) انجام گرفت. به این منظور RNA از  $200 \mu\text{l}$  میکرولیتر سرم، توسط کیت (High pure Viral Nucleic Acid kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, 1st strand cDNA synthesis kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) از روی RNA تهیه شد. cDNA با استفاده از روش RT-PCR شامل مرحله اولیه denaturation (۹۴ درجه ۴ دقیقه) و متعاقب آن  $40 \times$  سیکل denaturation (۹۴ درجه ۳۵ ثانیه)، annealing (۵۶ درجه ۴۵ ثانیه) و extension (۷۲ درجه ۴۵ ثانیه) تکثیر گردید. محصول RT-PCR با روش nested PCR (۹۴ درجه ۴ دقیقه و  $30 \times$  سیکل ۹۴ درجه ۳۰ ثانیه،  $57 \times$  درجه  $30 \times$  ثانیه و  $72 \times$  درجه ۳۰ ثانیه) با استفاده از Taq polymerase (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) (amplify) شد. پرایمرهای استفاده شده در RT-PCR/Nested PCR به صورت زیر بودند:

G1 (outer; forward), 5'-AAAGGTGGTGGATGGGGTGATGAC-3',  
 G2 (outer; reverse), 5'-GCCACCCGCCCTCACCC-3',  
 G3 (inner; forward), 5'-TTGGTGGTAGGTCGTAATCCCCG-3',  
 G4 (inner; reverse), 5'-AGCTGGGTGGCCCCATGC-3',  
 پرایمرهای داخلی یک قطعه ۳۳۳ bp در ناحیه 5'UTR ویروس HGV (باز ۱۳۴ تا ۴۶۷) را تکثیر نمودند. محصولات PCR بر روی ژل آگارز  $1/5\%$  حاوی اتیدیوم بروماید الکتروفورز شد و در زیر نور U.V مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته ها با استفاده از نرم افزار SPSS 11.5 و آزمونهای آماری t و chi-square (یا تست دقیق فیشر) تجزیه و تحلیل شد و مرز معنی داری اختلافات روی  $P < 0/05$  قرار داده شد. داده ها به صورت means  $\pm$  standard deviations و در صورت لزوم عدد مطلق یا درصد گزارش شدند.

## یافته ها

۸۲ بیمار با میانگین سنی  $37/4 \pm 8/6$  سال در این مطالعه وارد شدند.  $68/3\%$  بیماران مرد و  $31/7\%$  آنان زن بودند. میانگین سلول های CD4 بیماران  $347/15 \pm 175/97 \text{ cells/mm}^3$  و میانگین HIV Viral load بیماران  $1/98 \pm 2/05$  بود. شیوع کلی HGV در بیماران  $10/97\%$  بوده که  $88/9\%$  بیماران آلوده به HGV، CD4 بیشتر یا مساوی  $200 \text{ cells/mm}^3$  و  $11/1\%$  آنها CD4 کمتر از  $200 \text{ cells/mm}^3$  داشتند. این بیماران بر اساس راه اصلی انتقال HIV به ۲ گروه IDU و منتقله از راه جنسی تقسیم شدند. گروه IDU شامل ۵۱ مرد و یک زن با میانگین سنی  $37/7 \pm 8/4$  سال بودند. میانگین HIV Viral load بیماران  $2/09 \pm 2/07$   $10 \log_{10}$  بود. شیوع HGV در این بیماران  $13/5\%$  و میانگین سلول های CD4،  $340/4 \pm 202/9 \text{ cells/mm}^3$  بود. گروه منتقله از راه جنسی شامل ۵ مرد و ۲۵ زن با میانگین سنی  $36/9 \pm 9/1$  سال بودند. میانگین

## REFERENCES

---

1. Stransky J. The discovery of hepatitis G virus. *cas Lek cesk* 1996; 135(4): 99-101.
2. Björkman P, Sundström G, Veress B, Widell A. Assessment of liver disease and biochemical and immunological markers in Swedish blood donors with isolated GB virus C/hepatitis G virus viremia. *Vox song.* 2000; 78(3):143-8.
3. Lin HH, Kao JH, Yeh KY, et al. Mother-to-infant transmission of GB virus C/hepatitis G virus: the role of high-titered maternal viremia and mode of delivery. *J Infect Dis* 1998; 177:1202–6.
4. Ramia S, Mokhbat J, Sibai A, et al. HIV Epidemiology Research Study Group. Exposure rates to hepatitis C and G virus infections among HIV-infected patients: evidence of efficient transmission of HGV by the sexual route. *Int J STD AIDS.* 2004;15(7):463-6
5. Bourlet T, Guglielminotti C, Evrard M, et al. Prevalence of GBV-C/hepatitis G virus RNA and E2 antibody among subjects infected with human immunodeficiency virus type 1 after parenteral or sexual exposure. *J Med Virol.* 1999;58(4):373-7
6. Stark K, Bienzle U, Hess G, et al. Detection of the hepatitis G virus genome among injecting drug users, homosexual and bisexual men, and blood donors. *J Infect Dis.* 1996;174(6):1320-3
7. Nerurkar VR, Chau PK, Hoffman PR, et al. High prevalence of GB virus C/hepatitis G virus infection among homosexual men infected with human immunodeficiency virus type 1: evidence for sexual transmission. *J Med Virol* 1998; 56:123–7.
8. Lefrère JJ, Roudot-Thoraval F, Morand-Joubert L, et al. Prevalence of GBV-C/hepatitis G virus (HGV) RNA and of anti-E2 antibody in individuals at high risk of blood-borne or sexually-transmitted viruses: evidence of sexual and parenteral transmission. *Transfusion* 1999; 39:83–94.
9. Heringlake S, Ockenga J, Tillmann HL, et al. GB virus C/hepatitis G virus infection: a favorable prognostic factor in human immunodeficiency virus–infected patients? *J Infect Dis* 1998; 177:1723–6.
10. Alter HJ, Nakatsuji Y, Melpolder J, et al. The incidence of transfusion-associated hepatitis G virus infection and its relation to liver disease. *N Engl J Med* 1997; 336:747–54
11. Masuko K, Mitsui T, Iwano K, et al. Infection with hepatitis GB virus C in patients on maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* 1996; 334:1485–90
12. Campo N, Brizzolara R, Sinelli N, et al. Hepatitis G virus infection in intravenous drug users with or without human immunodeficiency virus infection. *Hepatogastroenterology.* 2000;47(35):1385-8
13. Frey SE, Homan SM, Sokol-Anderson M, et al. Evidence for probable sexual transmission of the hepatitis G virus. *Clin Infect Dis* 2002; 34(8):1033-8.
14. Zehender G, De Maddalena C, Bosisio AB, et al. Prevalence of hepatitis G virus RNA in human immunodeficiency virus type 1-positive intravenous drug users. *J Hum Virol.* 1998; 1(2):96-100
15. Lefrere JJ, Ferec C, Roudot-Thoraval F, et al. GBV-C/hepatitis G virus (HGV) RNA load in immunodeficient individuals and in immunocompetent individuals. *J Med Virol.* 1999;59(1):32-7