Archive of SID

خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۳ شماره ۴ زمستان ۹۵ (۲۵۸-۲۴۹)

مقاله پژوهشی

تعیین ساب‌تایپ‌های ویروس هپاتیت C در بیماران تالاسمی ایران به روش آنالیز فیلوژنتیک ناحیه NS5b

آروز آزادی[۱]، آزیتا آذرکیوان[۲]، فرهاد زمانی[۳]، معصومه السادات اسلامی[۴]، محمدرضا اشراقیان[۵]، کتایون صمیمی‌راد[۶]

چکیده

سابقه و هدف

بیماران تالاسمی به تزریق مکرر خون نیاز دارند و در معرض خطر ابتلا به هپاتیت C هستند. بالا بودن فراوانی این ویروس در جمعیت تالاسمی، عوارض سنگین ناشی از آلودگی با آن و اهمیتی که تعیین تیپ ویروس در درمان آلودگی دارد، از دلایل انجام این تحقیق بود. این مطالعه با هدف شناسایی آلودگی مزمن در بیماران تالاسمی و تعیین تیپ‌هایی از ویروس که این گروه با آن آلوده هستند، انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی، ۱۲۰ بیمار تالاسمی anti-HCV مثبت در دو شهر تهران و آمل بررسی شدند. پس از توالی‌یابی محصولات PCR ، تعیین تیپ نمونه‌ها با رسم درخت فیلوژنتیک صورت گرفت. یافته‌ها توسط آزمون‌های کای‌دو، t و دقیق‌فیشر و SPSS ۲۲ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

نتایج به دست آمده نشان داد ۶۷ (۵۵/۸٪) بیمار از نظر RNA ویروس مثبت بودند، از این بیماران ۳۴ (۲۸/۳٪) بیمار از تهران و ۳۳ (۲۷/۵٪) بیمار از شهر آمل بودند. از ۶۷ سویه ویروس، توانستیم ۶۵ مورد را تعیین تیپ کنیم. از این نمونه‌ها ۳۵ (۵۳/۸٪) بیمار تیپ 1a، ۲۰ (۳۰/۷٪) بیمار تیپ 3a، ۹ (۱۳/۸٪) بیمار تیپ 1b و ۱ (۱/۷٪) بیمار با تیپ 4a آلوده بودند.

نتیجه گیری

اعمال راه‌کارهایی که بتوان بیماران تالاسمی مبتلا به عفونت مزمن در مراکز تالاسمی را شناسایی کرد، ضروری می‌باشد. از آن جایی که تیپ ۱ این ویروس به درمان رایج انترفرون و ریباورین در مقایسه با تیپ‌های ۲ و۳ با درصد پایین‌تری پاسخ می‌دهد، غالب بودن تیپ ۱ در بین بیماران تالاسمی در درمان بیماران دارای اهمیت خاصی است.

کلمات کلیدی: ویروس هپاتیت C، ژنوتیپ، تالاسمی

تاریخ دریافت : ۹۵/۲/۲۲
تاریخ پذیرش: ۹۵/ ۷/۱۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد ویروس‌شناسی ـ دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران ـ تهران ـ ایران
۲- فوق تخصص هماتولوژی و انکولوژی کودکان ـ دانشیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و درمانگاه تالاسمی ـ تهران ـ ایران
۳- فوق تخصص گوارش و کبد ـ بیمارستان فیروزگر ـ تهران ـ ایران
۴- پزشک عمومی ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و درمانگاه تالاسمی ـ تهران ـ ایران
۵- PhD آمار و اپیدمیولوژی ـ استاد دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران ـ تهران ـ ایران
۶- مؤلف مسئول: PhD میکروب‌شناسی پزشکی ـ دانشیار دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۶۴۴۶

Downloaded from bloodjournal.ir at 15:09 IRST on Saturday February 11th 2017
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from bloodjournal.ir at 15:09 IRST on Saturday February 11th 2017

مقدمه

یکی از گروه‌های در معرض خطر از نظر ابتلا بـه HCV (Hepatitis C Virus) ، دریافت‌کنندگان مکرر خون از جمله بیماران تالاسمی هستند(۲، ۱). طبق گزارش‌ها حـدود ۱۸٪ بیماران تالاسـمی در کشـور مـا آنتـی‌بـادی علیـه ویـروس هپاتیت C دارنـد. ایـن رقـم خیلـی بـالاتر از فراوانـی ۰/۵ درصدی آنتی‌بادی علیه این ویـروس در جمعیـت عمـومی کشور می‌باشد(۳). دریافت خون غربـال نشـده در گذشـته فاکتور خطر اصلی عفونت HCV در این بیماران بوده است ولی بروز موارد جدید آلودگی ناشی از ایـن فـاکتور خطـر پس از سال ۱۳۷۵ یعنی از زمان آغاز طرح غربالگری خون از نظر آنتی‌بادی علیه HCV در ایران کاهش یافته است(۴). ۸۰٪-۵۰٪ بیماران مبتلا به عفونت حـاد HCV بـه هپاتیـت مزمن دچار می‌شوند و ۲۰٪ آن‌ها در مدت ۱۰ تـا ۲۰ سـال به سیروز کبـدی و ۵ ٪ مـوارد سـیروز کبـدی بـه بیمـاری کشنده هپاتوسلولار کارسینوما منجر می‌شود. بـه عـلاوه در دسـترس نبـودن واکسـن مناسـب و مشـکلات مربـوط بـه درمان، ویروس هپاتیت C را به یک مشکل جهـانی تبـدیل کرده است. از این رو مطالعه و تحقیق به منظـور شناسـایی افراد مبتلا به HCV مـزمن بـه منظـور جلـوگیری از انتقـال ویروس و درمان مؤثر بیمـاران آلـوده ضـروری اسـت. بـه علاوه از آن جایی که تصمیم‌گیری در مورد مدت درمـان و دوز داروهای تجویزی به تیـپ ویـروس بسـتگی دارد لازم است ژنوتیپ ویروسی که فرد با آن آلوده می‌باشـد، تعیـین شود(۵).

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی، ۱۲۰ بیمار تالاسمی کـه از نظـر آنتی‌بـادی علیـه HCV مثبـت بودنـد، مـورد بررسـی قـرار گرفتند. این نمونه‌ها از بیمـاران تالاسـمی شـهر تهـران(۶۰ نمونـه) و آمـل(۶۰ نمونـه) کـه دارای جمعیـت بـالایی از بیماران تالاسـمی هسـتند، انتخـاب شـدند. از هـر یـک از بیماران اطلاعات مربوط به نام و نام خانوادگی، سن، تعداد دفعات دریافت خون، زمان تشـخیص آلـودگی، درمـان در رابطه با هپاتیت C ، دریافت خون از خارج کشور از طریق پرسش از خود بیمار و هم چنین با مراجعه به پرونده آن‌هـا جمع‌آوری شد. به منظور استخراج RNA ویروس از کیـت QIAamp Viral RNA Purification اسـتفاده شـد. ابتـدا بـه نمونـه پلاسـمای بیمـاران، بـافر AVL واجـد RNA حامـل اضافه شد و پس از لیز، نمونه‌هـا در سـتون QIAamp Mini بارگذاری شدند. پس از دو مرحله شستشو، برای RNA بـه دست آمده، با استفاده از کیـت One Step RT-PCR کیـاژن، ساخت cDNA و سپس PCR انجام شد. آغازگرهای مورد استفاده شامل آغازگر جلو برنده مربوط به جایگـاه ۷۹۵۸ – ۷۹۳۵ و آغازگر معکوس مربوط به جایگاه ۸۲۷۳-۸۲۵۰ از ژن *NS5B* بودند(۶).

محصولات PCR قطعاتی در حـدود ۳۳۸ نوکلئوتیـدی هستند، که پس از انجام الکتروفورز و خالص‌سـازی، آن‌هـا را توالی‌یابی کردیم. توالی‌های بـه دسـت آمـده را در کنـار توالی‌های موجـود در ژن بانـک قـرار داده و بـا اسـتفاده از برنامه مگـا ۶ درخـت فیلوژنتیـک(بـا اسـتفاده از الگـوریتم UPGMA و روش kimmura 2) دنـدروگرام بـرای ناحیـه NS5B رسـم شـدند. اطلاعـات بـه دسـت آمـده از پرسش‌نامه‌های بیماران مورد مطالعه به همراه نتیجه آزمایش PCR و تیپ سویه‌های جدا شده از بیمـاران بـا اسـتفاده از درخـت فیلوژنتیـک، در برنامـه SPSS ۲۲ مـورد تجزیـه و تحلیل آماری قرار گرفتند. ارتباط بین مارکرهای ویروسی با هر یک از متغیرهای کیفی با استفاده از آزمون‌هـای آمـاری کای‌دو و دقیق فیشر و بـا هـر یـک از متغیرهـای کمـی بـا اسـتفاده از آزمـون t-test ارزیـابی شـدند. p-value کمتـر از ۰/۰۵ به عنوان ارتباط معنادار بین داده‌های دو متغیر در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از ۱۲۰بیمار دارای آنتی‌بادی علیه ویروس هپاتیـت C ، نتیجه آزمایش PCR ۶۷ بیمار(۵۵/۸٪) مثبت بـود. میـانگین سن بیماران ۷ ± ۲۴/۶ سال بـود و در گـروه سـنی ۲۱-۱۱ سال بیشترین فراوانی دیده می‌شد. بیشـتر بیمـاران قبـل از سال ۱۳۷۵ دریافت خون را شروع کـرده بودنـد(سـالی کـه طرح غربالگری خون‌ها از نظـر ویـروس هپاتیـت C آغـاز شد)(جدول ۱). آنالیز آماری برای یافتن فاکتورهـای خطـر مرتبط با مثبت شدن آزمایش PCR بیماران تالاسـمی نشـان

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from bloodjournal.ir at 15:09 IRST on Saturday February 11th 2017

جدول ۱: مجموعه اطلاعات بیماران تالاسمی مورد مطالعه بر حسب نتیجه PCR

		PCR $^-$	PCR $^+$	OR	p value
تعداد نمونه		(۴۴/۱۷) ۵۳	(۵۵/۸۳) ۶۷	–	–
جنس	زن	(۵۲/۸۳) ۲۸	(۴۰/۳۰) ۲۷	۱/۶۵۹ (۰/۸۰۲–۳/۴۳۴)	۰/۹۱۹
	مرد	(۴۷/۱۷) ۲۵	(۵۹/۷۰) ۴۰		
نوع تالاسمی	ماژور	(۹۲/۴۵) ۴۹	(۸۹/۵۵) ۶۰	۱/۴۲۹ (۰/۳۹۵–۵/۱۵۷)	۰/۷۵۳
	اینترمدیا	(۷/۵۵) ۴	(۱۰/۴۵) ۷		
طول دوره درمان	۱۸۰ ماه ≤	(۲۶/۴۲) ۱۴	(۱۷/۹۱) ۱۲	۱/۶۳۴ (۰/۶۸–۳/۹۴)	۰/۲۶۳
	۱۸۰ ماه <	(۷۳/۵۸) ۳۹	(۸۲/۰۹) ۵۵		
تعداد واحد خون دریافتی	۳۰۰ واحد ≤	(۲۸/۳۰) ۱۵	(۳۸/۸۱) ۲۶	۰/۶۲۲ (۰/۲۸۷–۱/۳۴۹)	۰/۲۲۸
	۳۰۰ واحد <	(۷۱/۷۰) ۳۸	(۶۱/۱۹) ۴۱		
HCV برای درمان	بله	(۶۰/۳۸) ۳۲	(۶۱/۱۹) ۴۱	۰/۹۶۶ (۰/۴۶۲–۲/۰۲۱)	۰/۹۲۷
	خیر	(۳۹/۶۲) ۲۱	(۳۸/۸۱) ۲۶		
اولین واحد خون دریافتی	قبل از سال ۱۳۷۵	(۹۸/۱۲) ۵۲	(۸۸/۱۰) ۵۹	۰/۲۹۵ (۰/۰۵۵–۱/۵۸۸)	۰/۲۳۹
	بعد از سال ۱۳۷۵	(۱/۸۸) ۱	(۱۱/۹۰) ۸		
سابقه خالکوبی	دارد	(۰) ۰	(۴/۴۸) ۳	۱/۸۲۸ (۱/۵۵–۲/۱۵)	۰/۲۵۴
	ندارد	(۱۰۰) ۵۳	(۹۵/۵۲) ۶۴		
سابقه اسپلنکتومی	دارد	(۵۲/۸۳) ۲۸	(۶۱/۱۹) ۴۱	۰/۷۱ (۰/۳۴۲–۱/۷۴۳)	۰/۳۵۷
	ندارد	(۴۷/۱۷) ۲۵	(۳۸/۸۱) ۲۶		
شهر	تهران	(۵۰/۹۴) ۲۷	(۴۹/۲۵) ۳۳	۰/۶۲۲ (۰/۲۸۷–۱/۳۴۹)	۰/۵۰۰
	آمل	(۴۹/۰۶) ۲۶	(۵۰/۷۵) ۳۴		
میانگین سنی(سال)		۲۳/۷ ± ۲/۱	۲۴/۱ ± ۰/۸	–	–
میانگین دوره درمان(ماه)		۲۳۲/۲ ± ۱۱/۳	۲۴۶/۱ ± ۱۲	–	–
میانگین واحد خون دریافتی		۴۷۸ ± ۳۶/۹	۴۲۲/۱ ± ۳۰/۴	–	–

داد که سن بیمار، مذکر یا مؤنث بودن، داشتن سابقه اسپلنکتومی، مدت زمان دریافت خون(کمتر از ۱۸۰ ماه یا بیشتر از ۱۸۰ ماه)، تعداد واحدهای خون دریافتی، سابقه دریافت خون قبل از ۱۳۷۵ یا پس از آن، سابقه خالکوبی، نوع بیماری تالاسمی با افزایش شانس مثبت شدن آزمایش PCR مرتبط نمی‌باشند.

با آنالیز سکانس ناحیه NS5B از ۶۷ سویه HCV توانستیم ۶۵ مورد را تعیین تیپ و دسته‌بندی کنیم و در مجموع ۴ ساب‌تایپ 1a، 1b، 3a و 4a مشاهده شد. از نمونه‌های تیپ شده، ۳۵ (۵۳/۸٪) بیمار با ساب‌تایپ 1a و پس از آن ۲۰ بیمار (۳۰/۷٪) با ساب‌تایپ 3a ، ۹ بیمار (۱۳/۸٪) با ساب‌تایپ 1b و ۱ بیمار (۱/۷٪) با ساب‌تایپ 4a آلوده بودند. توزیع ژنوتیپ‌ها در دو شهر تهران و آمل در جدول ۲ نشان داده شده است. درخت فیلوژنتیک رسم شده از نمونه‌های سکانس شده، برای بررسی بهتر به ۳ دندروگرام تقسیم شدند. دندروگرام ۱، ۳۵ توالی ساب‌تایپ 1a از بیماران تالاسمی مورد مطالعه به همراه ۳۵ توالی از منابع اطلاعاتی ژن بانک و EMBL را در بر می‌گیرد. در این دندروگرام ۲۲ نمونه از بیماران مورد مطالعه در ۱۰ کلاستر قرار گرفته‌اند. دندروگرام شماره ۲ ، از ۹ توالی ساب‌تایپ 1b از بیماران تالاسمی و ۹ توالی رفرانس ساب‌تایپ 1b از ژن بانک تشکیل شده است.

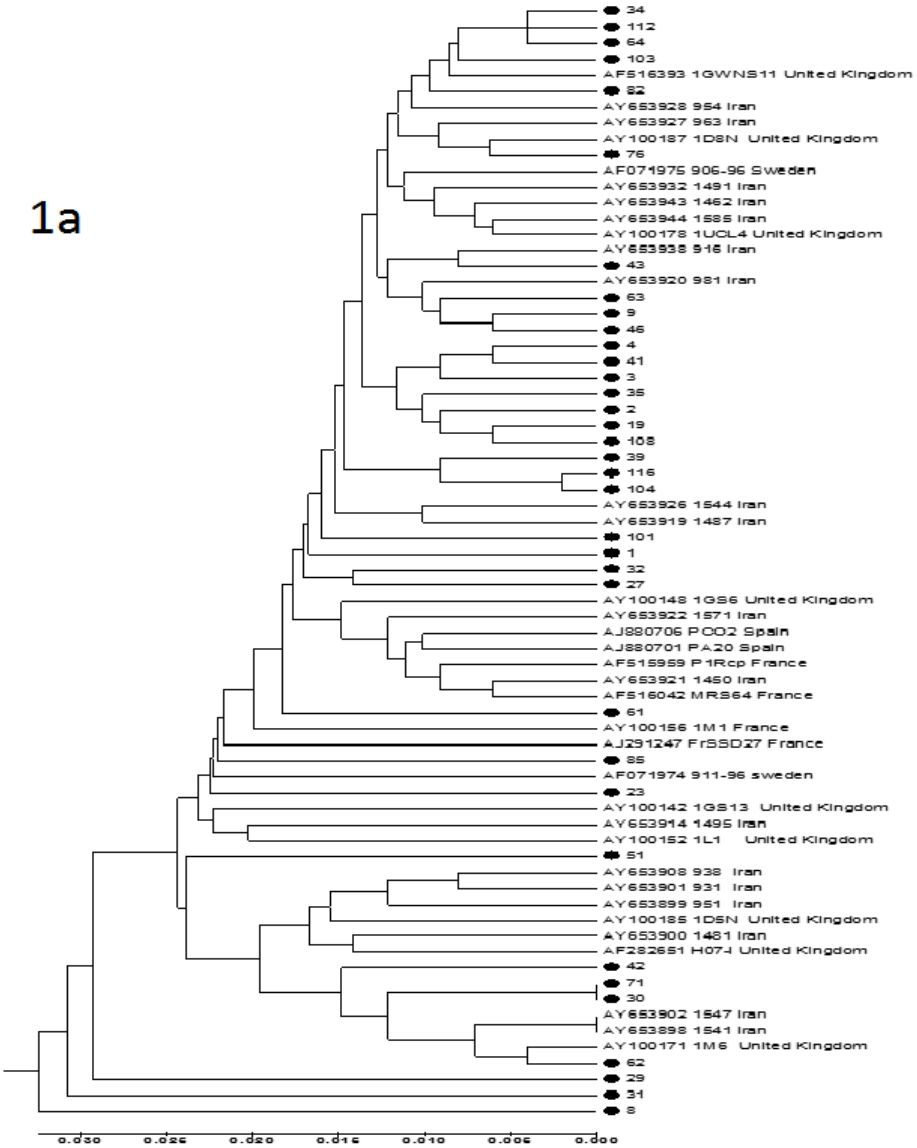
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from bloodjournal.ir at 15:09 IRST on Saturday February 11th 2017

جدول ۲: توزیع و درصد ساب‌تایپ ویروس هپاتیت C در بیماران PCR مثبت مورد مطالعه در دو شهر تهران و آمل

شهر	تهران	آمل	فراوانی (درصد)	نتیجه آزمون
ساب‌تایپ	فراوانی (درصد)	فراوانی (درصد)		
۱ a	۱۶ (۴۵/۷)	۱۹ (۵۴/۳)	۳۵ (۱۰۰)	دقیق فیشر
۱ b	۸ (۸۸/۹)	۱ (۱۱/۱)	۹ (۱۰۰)	
۳ a	۷ (۳۵)	۱۳ (۶۵)	۲۰ (۱۰۰)	
۴ a	۱ (۱/۷)	–	۱ (۱۰۰)	p= ۰/۲۱
جمع	۳۲ (۴۹/۲)	۳۳ (۵۰/۸)	۶۵ (۱۰۰)	

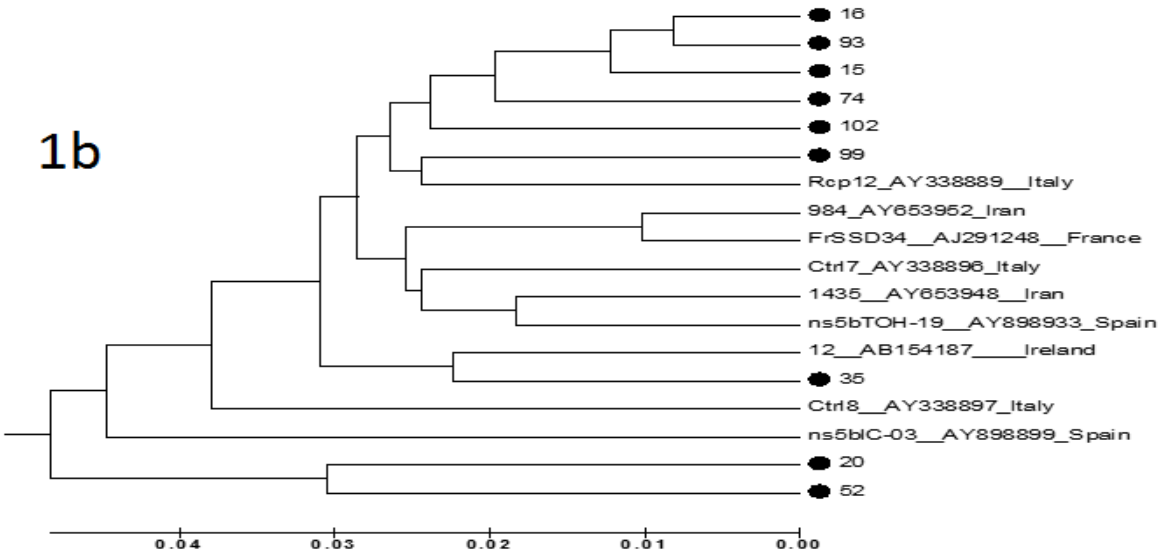


دندروگرام ۱ : بر اساس ۳۳۰ نوکلئوتید ناحیه NS5B ویروس هپاتیت C ساب‌تایپ 1a رسم شده است. بر روی دندروگرام سویه‌های مربوط به بیماران تالاسمی مورد بررسی در این تحقیق با نشان دایره مشخص شده است و سویه‌های رفرانس ایران و سایر نقاط جهان با شماره accession number و سپس نام کشوری که سویه رفرانس از آن جا شده است ذکر شده‌اند. این اطلاعات از ژن بانک و EMBL به دست آمده است.

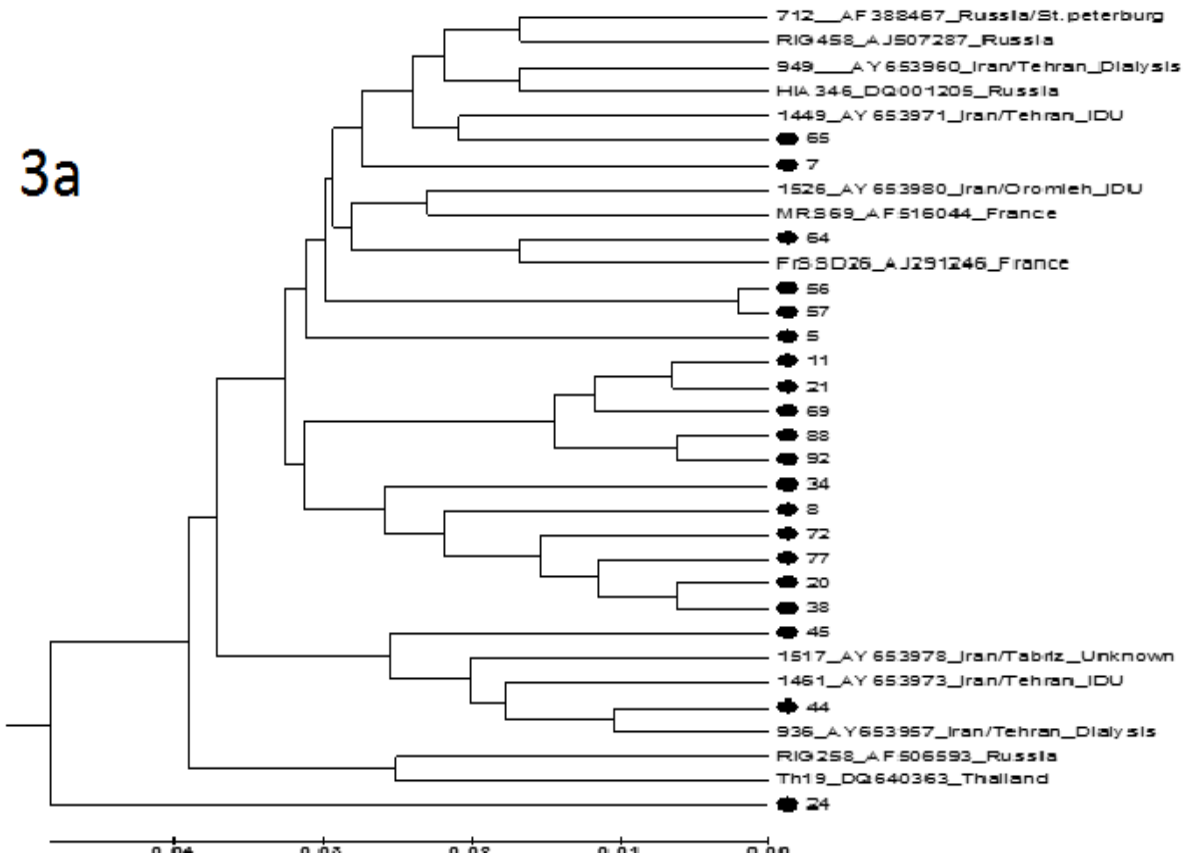
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from bloodjournal.ir at 15:09 IRST on Saturday February 11th 2017



دندروگرام ۲: ۹ بر اساس ۳۳۰ نوکلئوتید ناحیه NS5B ساب‌تایپ b ۱ ویروس هپاتیت C رسم شده است. سایر توضیحات این دندروگرام مشابه دندروگرام ۱ می‌باشد.



دندروگرام ۳: بر اساس ۳۳۰ نوکلئوتید ناحیه NS5B ساب‌تایپ ۳a ویروس هپاتیت C رسم شده است. سایر توضیحات این دندروگرام مشابه دندروگرام ۱ می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from bloodjournal.ir at 15:09 IRST on Saturday February 11th 2017

در این دندروگرام ۵ نمونه از بیماران مورد مطالعه در ۴ کلاستر قرار گرفته است. دندروگرام ۳ ، ۲۰ توالی ساب‌تایپ 3a از بیماران تالاسمی و ۱۳ توالی از ژن بانک را در بر می‌گیرد. ۱۳ نمونه از بیماران تالاسمی متعلق به ساب‌تایپ 3a در ۷ کلاستر قرار گرفته‌اند.

بحث

با توجه به مشکلات بهداشتی که ویروس هپاتیت C در ایران و سایر مناطق دنیا ایجاد کرده است، شناسایی بیماران مبتلا به هپاتیت C از جمله بیماران تالاسمی به منظور جلوگیری از انتقال ویروس و بروز موارد جدید آلودگی امری ضروری است. به اندازه شناسایی افراد آلوده، درمان مطابق با روش‌های استاندارد به منظور افزایش پاسخ‌های پایدار نسبت به ویروس لازم می‌باشد(۷). برای تحقق اهداف فوق این بررسی بر روی بیماران تالاسمی آنتی‌بادی مثبت انجام شد. یافته‌های این مطالعه، رابطه معناداری بین فاکتورهای خطر با مثبت شدن آزمایش PCR نشان نداد (جدول ۱). دلیل معنادار نبودن فاکتورهای فوق در بین بیماران مثبت و منفی، این است که بیماران PCR مثبت که در حال حاضر، آلودگی با ویروس را دارند و بیماران منفی که در حال حاضر عفونت در جریان را ندارند، شانس مواجهه یکسانی را با ویروس داشته‌اند و هر دو گروه با ویروس آلوده شده‌اند ولی در گروهی از آن‌ها سیستم ایمنی میزبان توانسته بدن بیمار را از آلودگی پاک کند و در گروه دیگر پاسخ ایمنی میزبان آن قدر قوی نبوده که بتواند عفونت را پاک کند. فاکتوری که در جدول ۱ جلب توجه می‌کند، سابقه درمان با اینترفرون است. همان طور که مشاهده می‌شود، از ۱۲۰ بیمار ۴۷ بیمار تحت درمان قرار نگرفته‌اند و از این بین، ۲۱ بیمار(۳۹/۶٪) از عفونت خود به خود پاک شده‌اند. این درصد از میزان مورد انتظار بیشتر است ولی به درصدگزارش شده از پاک شدگی خود به خود از بیماران تالاسمی سایر مناطق دنیا نزدیک است. بیماران تالاسمی اکثراً دریافت خون را در سنین خیلی پایین(حتی چند ماهگی) شروع می‌کنند و در موارد بیشتری، آلودگی در این شرایط سنی به پاک شدگی خود به خود منجر می‌شود(۸).

در این بررسی، ۶۷(۵۵/۸٪) بیمار از ۱۲۰ بیمار تالاسمی، از نظر آنتی‌بادی علیه ویروس هپاتیت C مثبت شدند. این مقدار از فراوانی ۸۳٪ گزارش شده از ایتالیا کمتر و از فراوانی ۴۳٪ تایوان، ۳۴/۵٪ لبنان و ۵۱٪ گزارش شده از عمان بیشتر است(۱۲-۹).

یافته‌های این تحقیق نشان داد ژنوتیپ غالب بین بیماران تالاسمی مورد بررسی تیپ ۱ با فراوانی ۶۷/۷٪ بود. توزیع ژنوتیپ غالب در این بررسی با مطالعه انجام شده توسط دکتر علویان و همکاران در سال ۲۰۰۹ بر روی ۲۸۰ بیمار تالاسمی ایران که ژنوتیپ ۱ را تیپ غالب اعلام کرده‌اند، مشابه می‌باشد(۱۳). مطالعه‌ای در کشور یونان بر روی جمعیت تالاسمی نیز تیپ ۱ را ژنوتیپ غالب اعلام کرده است(۱۴). ولی تیپ غالب گزارش شده از کشورهای هند با فراوانی ۴۵٪، تیپ a ۳ و a ۴ در لبنان با فراوانی ۵۳٪-۳۴٪ متفاوت می‌باشد(۱۶، ۱۵).

همان طور که نتایج حاضر نشان می‌دهند، اگر چه ساب‌تایپ‌های 1a در هر دو شهر تهران و آمل تیپ غالب می‌باشد ولی فراوانی ساب‌تایپ 3a در آمل تقریباً دو برابر فراوانی این ساب‌تایپ در تهران و فراوانی ساب‌تایپ 1b در شهر تهران ۸ برابر فراوانی آن در آمل می‌باشد و ساب‌تایپ 4a نیز فقط در شهر تهران مشاهده شد. رسم دندروگرام مربوط به این ساب‌تایپ(دندروگرام در مقاله نشان داده نشده است)، نشان داد سویه 4a جدا شده از بیمار تالاسمی مورد بررسی در این مطالعه بیشترین شباهت را به ایزوله M7284N از کشور کامرون دارد.

چندین فاکتور می‌تواند مسئول اختلاف در توزیع و فراوانی ساب‌تایپ‌های ویروس در دو شهر تهران و آمل باشد. اولاً ۲۵٪ از بیماران آلوده به HCV قبل از این که در تهران شروع به درمان کنند، در شهرهای دیگر و یا خارج از کشور به مدت چندین سال خون دریافت کرده‌اند، مثل بیماری که به تیپ a ۴ آلوده است. ثانیاً به علت تقاضای زیاد خون در شهر تهران، استفاده از خون‌های ارسالی از شهرهای دیگر اجتناب ناپذیر است. این امر می‌تواند به ورود ساب‌تایپ‌های مختلف HCV در تهران منجر شده باشد. مقایسه توزیع و فراوانی ژنوتیپ‌های ویروس هپاتیت C در بین بیماران تالاسمی با سایر گروه‌های در معرض

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from bloodjournal.ir at 15:09 IRST on Saturday February 11th 2017

خطر در ایران مانند بیماران هموفیلی(ساب‌تایپ 1a با فراوانی ۵۸٪ ، 3a (۱۸/۵٪)، 1b (۱۴٪)، ۴ (۱/۱٪)، ۲ (۰/۸٪)) و عفونت مخلوط (۶/۲٪) و بیماران دیالیزی (فراوانی ساب‌تایپ 1a (۵۳٪)، 1b (۱۸٪)، 3a (۲۲٪)، 4a (۱۸٪)) نشان می‌دهد که توزیع و فراوانی تیپ‌های HCV در بین بیمارانی که راه اصلی آلودگی آنها مصرف خون و فرآورده‌های خونی می‌باشد، مشابه است(۱۸، ۱۷). به علاوه این توزیع با توزیع ژنوتیپ‌های این ویروس در جمعیت عمومی کشور 1a (۴۷٪) و 3a (۳۶٪) نیز مطابقت دارد (۱۹). این یافته دور از انتظار نبود زیرا بیماران تالاسمی در ایران همیشه از خون تهیه شده از اهداکنندگان خون ایرانی مصرف کرده‌اند. در ایران به علت فرهنگ قوی اهدای خون، نیازی به واردات خون از خارج برای رفع نیازمندی‌های خون بیماران تالاسمی نبوده است، در نتیجه توزیع ژنوتیپی ویروس هپاتیت C در بیماران تالاسمی می‌تواند تا حد زیادی نشانگر این توزیع در جمعیت عمومی کشور باشد.

البته نتایج به دست آمده از این بررسی نشان می‌دهد که فراوانی و توزیع ژنوتیپ‌های ویروس در این گروه از بیماران با معتادین تزریقی که در حال حاضرگروه اصلی در معرض خطر با این ویروس در ایران هستند، متفاوت می‌باشد. در معتادین تزریقی، ساب‌تایپ 3a با فراوانی ۵۸٪ تیپ غالب و پس از آن ساب‌تایپ 1a با فراوانی ۴۲٪ قرار دارد(۲۰). این یافته‌ها نشان می‌دهد فراوانی و توزیع ژنوتیپ در گروه‌های در معرض خطری که خون دریافت می‌کنند، متفاوت از معتادین تزریقی در ایران است. نتایج فوق با مطالعه‌های گزارش شده از اروپا مطابقت دارند، این گزارش‌ها نشان می‌دهد که ساب‌تایپ غالب در بین بیمارانی که از طریق خون و فرآورده‌های خونی آلوده شده‌اند در اروپا 1b می‌باشد، در صورتی که در معتادین تزریقی ساب‌تایپ 3a، تیپ غالب است.

غالب بودن ساب‌تایپ 1a در بیماران تالاسمی از نظر درمان نکته قابل توجه می‌باشد، زیرا مطابق استاندارد درمانی برای داروهای رایج مورد مصرف در کشور ما که اینترفرون و ریباورین می‌باشند، مدت درمان بیماران آلوده به ساب‌تایپ 3a ، ۶ ماه است، در صورتی که مدت درمان بیماران آلوده به تیپ ۱ دو برابر، یعنی یک سال است(۲۲، ۲۱). از طرف دیگر موارد پاسخ به درمان در بیماران آلوده به تیپ 1a حدود ۲۵٪-۲۰٪ در مقایسه با تیپ 3a کمتر است. آلوده بودن اکثر بیماران تالاسمی به تیپ ۱ ویروس علاوه بر مشکلات درمانی، بار اقتصادی سنگین‌تری را بر دوش بیماران و مراکز بهداشتی مربوطه می‌گذارد. اگر چه غربالگری خون‌ها در ایران با موفقیت بسیار انجام شده و احتمال انتقال از طریق تزریق خون بسیار کاهش یافته و حتی در بسیاری از نقاط ایران حدود دو دهه است که به صفر رسیده است(۲۷-۲۳). ولی اعتیاد تزریقی در حال حاضر راه اصلی انتقال ویروس در ایران می‌باشد و احتمال انتقال بیمارستانی این ویروس هم‌چنان(از بیمار به بیمار یا پرستار به بیمار) وجود دارد(۳۰-۲۸)، در نتیجه لازم است بررسی بیماران تالاسمی از نظر آلودگی به HCV به صورت روتین در فواصل زمانی مشخص به صورت منظم صورت بگیرد. به علاوه، رعایت دقیق معیارهای پیشگیری، انتقال ویروس و بروز موارد جدید در کلیه مراکز تالاسمی ضروری است.

نتیجه‌گیری

با توجه به این که حدوداً ۱۸٪ بیماران تالاسمی از نظر آنتی‌بادی علیه HCV مثبت هستند که رقمی بسیار بالاتر از شیوع آلودگی است که در جمعیت عمومی کشور گزارش می‌شود و با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه که نشان می‌دهد در حدود ۶۰٪ از این افراد به عفونت مزمن دچار می‌شوند، برنامه‌ریزی برای شناسایی RNA ویروس و تعیین تیپ و درمان این بیماران به خصوص با داروهای جدید ضروری است.

اجرای بسیار موفق طرح غربالگری خون‌ها توسط سازمان انتقال خون ایران از علل کاهش بسیار چشمگیر و حتی به صفر رسیدن موارد انتقال ویروس از طریق انتقال خون در بیماران تالاسمی در بسیاری از مناطق کشور می‌باشد ولی از آن جایی که احتمال انتقال بیمارستانی این ویروس در مراکز تالاسمی(از طریق انتقال در بین بیماران و یا از پرستاران به بیماران، لوازم تزریق و وسایل مورد استفاده بیماران که یکبار مصرف نبوده، یعنی برای هر

www.SID.ir

Archive of SID

مریض تعویض نمی‌شود و بیماران از آن‌ها به طور مشترک استفاده می‌کنند) وجود دارد، خطر این راه انتقال را باید مورد توجه قرار داد. بدین ترتیب رعایت اصول پیشگیری که از انتقال بیمارستانی ویروس جلوگیری نماید، نیز باید از الویت بالایی برخوردار باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همکاری کلیه بیماران تالاسمی و عزیزانی که در مراکز تالاسمی ما را در این راه یاری کردند صمیمانه سپاسگزاریم.

References:

1- Mahmoud RA, El-Mazary AA, Khodeary A. Seroprevalence of Hepatitis C, Hepatitis B, Cytomegalovirus, and Human Immunodeficiency Viruses in Multitransfused Thalassemic Children in Upper Egypt. Adv Hematol 2016; 2016: 9032627.
2- Saeed U, Waheed Y, Ashraf M ,Waheed U, Anjum S, Afzal MS. Estimation of Hepatitis B Virus, Hepatitis C Virus, and Different Clinical Parameters in the Thalassemic Population of Capital Twin Cities of Pakistan. Virology (Auckl) 2015; 6: 11-6.
3- Abolghasemi H, Amid A, Zeinali S, Radfar MH, Eshghi P, Rahiminejad MS, *et al*. Thalassemia in Iran: epidemiology, prevention, and management. J Pediatr Hematol Oncol 2007; 29(4): 233-8.
4- Mirmomen S, Alavian SM, Hajarizadeh B, Kafaee J, Yektaparast B, Zahedi MJ, *et al*. Epidemiology of hepatitis B, hepatitis C, and human immunodeficiency virus infecions in patients with beta-thalassemia in Iran: a multicenter study. Arch Iran Med 2006; 9(4): 319-23.
5- Alberti A, Benvegnu L. Management of hepatitis C. J Hepatol 2003; 38 Suppl 1: S104-18.
6- Simmonds P, Holmes EC, Cha TA, Chan SW, McOmish F, Irvine B, *et al*. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. J Gen Virol 1993;74 (Pt 11): 2391-9.
7- Alavian SM, Tabatabaei SV, Lankarani KB. Epidemiology of HCV Infection among thalassemia Pationts in estern Mediterranean Iran Red Cres Med [a Quantitative Review of Literature] 2010; 4: 365-76.
8- Shahraki T, Shahraki M, Moghaddam ES, Najafi M, Bahari A. Determination of hepatitis C genotypes and the viral titer distribution in children and adolescents with major thalassemia. Iran J Pediatr 2010; 20(1): 75-81.
9- Perniola R, De Rinaldis C, Accogli E, Lobreglio G. Prevalence and clinical features of cryoglobulinaemia in multitransfused beta-thalassaemia patients. Ann Rheum Dis 1999; 58(11): 698-702.
10- Ni YH, Chang MH, Lin KH, Chen PJ, Lin DT, Hsu HY, *et al*. Hepatitis C viral infection in thalassemic children: clinical and molecular studies. Pediatr Res 1996; 39(2): 323-8.
11- Ramia S, Koussa S, Taher A, Haraki S, Klayme S, Sarkis D, *et al*. Hepatitis-C-virus genotypes and hepatitis-G-virus infection in Lebanese thalassaemics. Ann Trop Med Parasitol 2002; 96(2): 197-202.
12- Al-Naamani K, Al-Zakwani I ,Al-Sinani S, Wasim F, Daar S. Prevalence of Hepatitis C among Multi-transfused Thalassaemic Patients in Oman: Single centre experience. Sultan Qaboos Univ Med J 2015; 15(1): e46-51.
13- Alavian SM, Miri SM, Keshvari M, Elizee PK, Behnava B, Tabatabaei SV, *et al*. Distribution of hepatitis C virus genotype in Iranian multiply transfused patients with thalassemia. Transfusion 2009; 49(10): 2195-9.
14- Christofidou M, Lambropoulou-Karatza C, Dimitracopoulos G, Spiliopoulou I. Distribution of hepatitis C virus genotypes in viremic patients with beta-thalassemia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000; 19(9): 728-30.
15- Chakravarti A, Verma V. Distribution of hepatitis C virus genotypes in beta-thalassaemic patients from Northern India. Transfus Med 2006; 16(6): 433-8.
16- Sharara AI, Ramia S, Ramlawi F, Fares JE, Klayme S, Naman R. Genotypes of hepatitis C virus (HCV) among positive Lebanese patients: comparison of data with that from other Middle Eastern countries. Epidemiol Infect 2007; 135(3): 427-32.
17- Keshvari M, Alavian SM, Behnava B, Miri SM, Karimi Elizee P, Tabatabaei SV, *et al*. Distribution of Hepatitis C Virus Genotypes in Iranian Patients with Congenital Bleeding Disorders. Iran Red Cres Med 2012; 12(6): 608-14.
18- Samimi-Rad K, Hosseini M, Mobeini G, Asgari F, Alavian SM, Tahaei ME, *et al*. Hepatitis C virus infection among multi-transfused patients and personnel in haemodialysis units in central Islamic Republic of Iran. East Mediterr Health J 2012; 18(3): 227-35.
19- Samimi-Rad K, Nategh R, Malekzadeh R, Norder H, Magnius L. Molecular epidemiology of hepatitis C virus in Iran as reflected by phylogenetic analysis of the NS5B region. J Med Virol 2004; 74(2): 246-52.
20- Samimi-Rad K, Nasiri Toosi M, Masoudi-Nejad A, Najafi A, Rahimnia R, Asgari F, *et al*. Molecular epidemiology of hepatitis C virus among injection drug users in Iran: a slight change in prevalence of HCV genotypes over time. Arch Virol 2012; 157(10): 1959-65.
21- Hajiaghamohammadi A, Samimi R, Miroliaee A, Kazemifar AM, Nazem M. Treatment outcome in chronic hepatitis C infection: a four years survey among Iranian patients. Glob J Health Sci 2015; 7(3): 75-81.
22- Ravi S, Nasiri Toosi M, Karimzadeh I, Ahadi-Barzoki M, Khalili H. Adherence to chronic hepatitis C treatment regimen: first report from a referral center in

Downloaded from bloodjournal.ir at 15:09 IRST on Saturday February 11th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

iran. Hepat Mon 2013; 13(6): e11038.
23- Jafroodi M, Davoudi-Kiakalayeh A, Mohtasham-Amiri Z, Pourfathollah AA, Haghbin A. Trend in Prevalence of Hepatitis C Virus Infection among beta-thalassemia Major Patients: 10 Years of Experience in Iran. Int J Prev Med 2015; 6: 89.
24- Kashanchi Langarodi M, Abdolrahim Poorheravi H. Prevalence of diabetes, hypothyroidism and hypoparathyroidism in thalassemia patients in Shahid Bahonar Hospital, Karaj. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2013; 9(4): 422-8. [Article in Farsi]
25- Torabi SE, Abed Ashtiani K, Dehkhoda R, Moghadam AN, Sorkhabi R, Bahram MK, *et al*. Prevalence of hepatitis B and C in thalassemic patients of East Azarbaijan in 2003. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2005; 2(4): 115-22. [Article in Farsi]
26- Mahdaviani F, Saremi S, Rafiee M. Prevalence of hepatitis B, C and HIV infection in thalassemic and hemophilic patients of Markazi province in 2004. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2008; 4(5): 313-22. [Article in Farsi]
27- Valizadeh N, Noroozi M, Hejazi S, Nateghi S, Hashemi A. Seroprevalence of Hepatitis B, Hepatitis C and Human Immunodeficiency Viruses among Thalassemia Patients in West North of Iran. Iran J Ped Hematol Oncol 2015; 5(3): 145-8.
28- Andalibalshohada A, Rezaii SA, Abedi F. HCV prevalence and predominant genotype in IV drug users. Rev Clin Med 2014;1(4): 200-6.
29- Alavian SM. Hepatitis C infection in Iran; A review article. Arch Clin Infect Dis 2009; 4(1): 47-59.
30- Azarkeivan A, Hajibeigi B, Nasiritosi M, Amin Kafiabad S, Maghsudlu M, Shadman A, *et al*. Trace back of thalassemic patients with positive HCV markers to their donors in Adult Thalassemia Center. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2010; 7(3): 156-61. [Article in Farsi]

Downloaded from bloodjournal.ir at 15:09 IRST on Saturday February 11th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2017; 13(4): 249-258

Downloaded from bloodjournal.ir at 15:09 IRST on Saturday February 11th 2017

Original Article

Determination of Hepatitis C virus subtypes in thalassemia patients by phylogenetic analysis by NS5B region

Azadi A.[1], Azarkeivan A.[2,3], Zamani F.[4], Eslami M.S.[2,3], Eshragiyan M.[1], Samimi-Rad K.[1]

[1]*School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
[2]*Blood Transfusion Research center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran*
[3]*Adult Thalassemia Clinic, Tehran, Iran*
[4]*Firoozgar General Hospital, Tehran, Iran*

Abstract

Background and Objectives

Patients with thalassemia are one of the at risk groups for acquiring Hepatitis C virus (HCV) infection. They need to be transfused regularly. High prevalence of this virus in thalassemia population, complications of HCV infection and the important effect of HCV genotype determination in treatment of the virus were the reasons for performing this research. The aims of the present study were to detect thalassemia patients with chronic infection and determinate the HCV subtypes distribution in this group.

Materials and Methods

The study was concluded on 120 specimens for HCV antibody from thalassemia patients in Tehran and Amol cites. After sequencing of PCR products, determination of HCV subtypes was performed by construction of phylogenic trees. χ^2, t, Fisher exact test and SPSS 22 have been used for data analysis.

Results

The results showed that 67 (55/8 %) of the 120 specimens were positive for HCV RNA, 34 (28.3%) from Tehran and 33 (27.5%) from Amol. 65 specimens could be genotyped. Subtype 1a accounted for 53/8 % (n=35), 3a for 30.7 % (n = 20), 1b for 13/8 % (n = 9) and 4a for 1/7 % (n = 1) of infected cases.

Conclusions

Implementation of effective strategies for detection of thalassemia patients, with HCV chronic infection in thalassemia centers is necessary. The predominance of genotype 1 among thalassemia patients is important in treatment of these patients because genotype 1 indicates lower rate of sustained viral response to current therapy (Interferon and Ribavirin) compare to HCV genotype 2 and 3.

Key words: Hepatitis C virus, Genotype, Thalassemia

Received: 11 May 2016
Accepted: 3 Oct 2016

Correspondence: Samimi-Rad K., PhD in Medical Microbiology. School of Public Health, Tehran University of Medical Science
P.O.Box: 6446, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88950595; Fax: (+9821) 88989120
E-mail: *Ksamimirad@sina.tums.ac.ir*

www.SID.ir