

تعیین شیوع هپاتیت C در بیماران مبتلا به تالاسمی شهر کرد، سال ۱۳۷۷

دکتر میرزا بصیرت نیا^{*}، دکتر سید محمد کاظم حسینی اصل^{**}

* استادیار، گروه اطفال، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد

** استادیار، گروه داخلی، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد

خلاصه

ساخته و هدف: اکثریت موارد هپاتیت پس از تزریق خون، ناشی از ویروس C یا HCV می‌باشد. کودکان مبتلا به تالاسمی که مکرراً خون دریافت می‌کنند ریسک بالایی برای عفونت HCV دارند. از آنجاییکه این کودکان با پیوند مغز استخوان قابل درمان هستند، تشخیص HCV در آنها حائز اهمیت خواهد بود. هدف از انجام این مطالعه، تعیین شیوع HCV در بیماران مبتلا به تالاسمی و تأکید بر این نکته بود که این بیماران با دریافت خون، مخزن بزرگی برای بیماری هپاتیت C در جامعه هستند.

مواد و روشها: ۱۱۳ بیمار مبتلا به تالاسمی در این مطالعه مقطعی وارد شدند و تستهای AntiHCV و آلتین ترانسفراز (ALT) روی نمونه‌ها انجام گرفت. در افرادی که AntiHCV مثبت بود، برای رد موارد مشتبه کاذب، تست RIBA انجام شد.

نتایج: شیوع HCV در این مطالعه ۲۳٪ بود. نسبت مرد به زن ۱/۳ به ۱ بود. با آزمون کای دو و آزمون فیشر، بین شاخصهای سن و تعداد واحد خون دریافتی و میزان ALT از یک سو و ابتلا به هپاتیت C (در دو گروه مبتلا و غیرمبتلا) اختلاف معنی داری گزارش شد ($P < 0.01$).

نتیجه گیری و توصیه‌ها: میزان آلودگی بیماران در این مطالعه در طیف آلودگی ذکر شده در کتب رفرانس قرار دارد. همچنین مشابه برخی مطالعات بین سن، تعداد واحد خون دریافتی و میزان ALT با گرفتاری HCV اختلاف معنی داری دیده شد.

وازگان کلیدی: هپاتیت C، تالاسمی

مقدمه

ویروس C وجود دارد. از آنجا که با پیوند مغز استخوان چنین بیمارانی قابل درمان هستند، هپاتیت مزمن ناشی از

ویروس C در آنها حائز اهمیت است (۱۲).

برآورد کلی شیوع هپاتیت C در جمعیت عمومی مردم مشکل است بدین لحاظ اغلب مطالعات بر روی گروههای

انتخاب شده از نظر خطر پایین یا بالای ابتلا به هپاتیت C صورت گرفته است (۱۱). در بین خون‌دهندگان کم خطر

در آمریکا، شیوع هپاتیت C حدود ۰/۶ درصد است البته این اعداد نسبت به مناطق جغرافیایی مختلف متغیر است و

از ۰/۳ درصد در کانادا و اروپای شمالی تا ۱/۵-۱/۲ درصد

در ژاپن و اروپای جنوبی گزارش شده است. در گروههای پر خطر مانند مبتلایان به هموفیلی و تالاسمی شیوع آن

از ۶۰ درصد گزارش شده است (۱۱).

ویروس هپاتیت C (HCV) که قبل از گروه ویروسهای non-A non-B hepatitis نامگذاری شده بود یک ویروس RNA دار و حاوی ۹۵۰۰ نوکلئوتید و متعلق به خانواده Flaviviruses می‌باشد (۸).

هپاتیت C مهمترین بیماری کبدی در جهان می‌باشد (۷).

این بیماری در کودکان ظاهرآ سالم نادر است (۴) و شایعترین علت هپاتیت متعاقب دریافت خون می‌باشد

(۹,۶,۳)، به طوریکه ۹۰ درصد هپاتیتهای متعاقب تزریق خون را به خود اختصاص داده است (۸). سیر بالینی هپاتیت

C بسیار متغیر است. بیش از نیمی از کودکان به سمت هپاتیت مزمن سیر می‌کنند ولی عملکرد کبدی آنها معمولاً

طیعی است (۱۴,۵). در کودکان مبتلا به تالاسمی که مکرراً خون دریافت می‌کنند، ریسک بالای عفونت با

و SOD می‌باشد. در این حالت، یک نمونه وقتی مثبت محسوب می‌شود که واکنش با ۲ یا بیشتر از باندهای مربوط به حداقل ۲ ناحیه مختلف ژنی به اندازه مساوی یا بیشتر از باند Weak IgG control انجام شده باشد و الزاماً واکنشها با ناحیه SOD انجام نشده باشد. به نمونه‌هایی که واکنش فقط در سطح یک ناحیه ژنومی (علیرغم باندهای مختلف مثلاً ۵-۱-۱ و ۳-۱۰۰-۵) که مربوط به ناحیه NS می‌باشند) انجام شده باشد اینترمیدیت یا حد واسط اطلاق می‌گردد.

در تست RIBA نسل سوم باند ۵-۱-۱ حذف شده و باند NS اضافه می‌شود. در این تست باندهای ۳-۱۰۰-۵ در ۳۲۲-۳ پیتیدهای ساختگی می‌باشند، در حالی که NS5 و C33C پروتئین‌های نوترکیب (recombinant) هستند. این پیتیدها طوری طراحی شده‌اند که واکنشهای متقطع غیر اختصاصی را حذف می‌کنند.

تست RIBA آنتی‌بادی‌های اختصاصی را از واکنشها و آنتی‌بادی‌های غیر اختصاصی تمیز می‌دهد (۱۷). موارد مثبت کاذب تست الایزا در نمونه‌های سرمی از تاریخ گذشته، سرم‌های حاوی روماتوئید فاکتور و یا سایر آنتی‌بادی‌ها و سرم افراد low risk مثل اهداء کنندگان خون می‌باشند (۸، ۱۱).

در تعداد کمی از بیماران مبتلا به هپاتیت C تست الایزا منفی و تشخیص با تعیین RNA ویروس مزبور توسط تکنیک PCR امکان‌پذیر است (۸). گاهی اوقات با حساس‌ترین تکنیک‌ها نمی‌توان در تمام دوره‌های عفونت RNA ویروس را تشخیص داد در نتیجه یک HCV-RNA منفی بیانگر آلوده نبودن نمی‌باشد (۱۷).

تعیین RNA ویروس به روش PCR حساس‌ترین تست جهت تشخیص هپاتیت C به حساب می‌آید ولی این تکنیک فوق‌العاده حساس، گران و مشکل است، لذا بعنوان تست روتین از آن استفاده نمی‌شود (۱۶).

نتایج بدست آمده و تأیید شده توسط تست RIBA به دلیل حذف واکنشهای غیر اختصاصی از حساسیت و اختصاصیت بالایی برخوردار است (۱۷) و انطباق زیادی با نتایج حاصل از تعیین RNA ویروس C با روش PCR دارد (۳).

هدف از این مطالعه تعیین شیوع هپاتیت C در گروهی از بیماران مبتلا به تالاسمی است که به علت دریافت خونهای مکرر مخزن نسبتاً بزرگی از بیماران مبتلا به هپاتیت C در جامعه را تشکیل می‌دهند.

مواد و روشها

۱۱۳ بیمار مبتلا به تالاسمی که حداقل ماهی یکبار جهت دریافت خون مراجعه می‌کردند در دو مرحله در این مطالعه مقطعی وارد شدند.

در مرحله اول از کل بیماران در روزهایی که جهت دریافت خون مراجعه می‌کردند نمونه‌گیری انجام می‌شد و سرم بیمار جدا می‌گردید. سرم به دو قسمت تقسیم شده یکی از نمونه‌ها در دمای یخچال و نمونه دیگر در -۲۰°C قرار می‌گرفت. بر روی نمونه‌ای که در یخچال نگهداری می‌شد تست ALT توسط دستگاه Auto Analyzer انجام شد. نمونه‌های فریز شده در داخل cold box با دمای -۴°C به سازمان انتقال خون تهران برده شد و تست Anti HCV با روش الایزا نسل سوم (۱۷) با کیت آزمایشگاهی Avicenna متعلق به شرکت Avicenna Medical Center کشور روسیه انجام می‌گرفت.

در مرحله دوم از تمام بیمارانی که تست Anti HCV آنها در مرحله اول مثبت گزارش شده بود خون‌گیری مجدد صورت گرفت، سرم آنها فریز گردیده و تست RIBA نسل سوم با کیت آزمایشگاهی Ganelabs-Diagnostic متعلق به کشور سنگاپور انجام می‌شد.

اصل و نحوه انجام تست RIBA اساس این تست استفاده از نوارهای پلاستیکی پوشیده شده از باندهای آنتی ژنی اختصاصی در تست الایزا می‌باشد. تست RIBA نسل ۱ شامل نوارهای نیتروسلولز است که حاوی باندهای آنتی ژنی ۱-۱-۵ (تولید شده توسط (E-coli)، باند آنتی ژنی C1۰۰-۳) (تولید شده توسط مخمر)، باند SOD (پروتئین کاریر) و باندهایی از IgG Low Mod IgG می‌باشد. در این تست نمونه وقتی "واکنش داده" محسوب می‌شود که با هر دو باند آنتی ژنی ۱-۱-۱ (C1۰۰-۳، ۵-۲) به همان شدت یا بیشتر از باند Low IgG از RIBA نسل ۲ حاوی باندهای آنتی ژنی ۱-۱-۵ (C1۰۰-۳، ۵-۲) واکنش نشان دهد. RIBA نسل ۲ حاوی باندهای آنتی ژنی ۱-۱-۵ از سلولهای مخمر، C33C از سلولهای مخمر،

یافته‌ها

متلا به هپاتیت C، ۳۵ نفر (۴۰/۲٪) افزایش یافته را نشان دادند.

با استفاده از آزمون کای دو، ارتباط معنی‌داری بین افزایش ALT و ابتلا به هپاتیت C وجود دارد، بدین معنی که بیماران متلا به هپاتیت C دارای سطح ALT بالاتری نسبت به بیماران غیر متلا می‌باشد ($p < 0.007$).

بحث

بیمارانی که نیازمند دریافت مکرر خون و فراورده‌های خونی می‌باشند در معرض خطر دریافت عوامل بیماریزا بالاخص HCV قرار دارند. با وجود غربالگری، ۱٪ واحدهای خون آلوده به HCV هستند، این در حالیست که ۷۰-۹۰ درصد بیماران متلا به هپاتیت C به سمت هپاتیت مزمن پیشرفت خواهند کرد، لذا توجه بیشتر به این مهم ضروری است (۱۱).

شیوع هپاتیت C در جمعیت مورد مطالعه ما ۲۳ درصد برآورد شد که تشخیص آن با تعیین AntiHCV و رد موارد مثبت کاذب توسط تست RIBA-III بود. هیچکدام از موارد AntiHCV مثبت، مثبت کاذب نبودند و تست RIBA همگی آنها را تأیید کرد.

در مطالعات مشابه ارقام مختلفی در رابطه با شیوع هپاتیت C گزارش شده است. در مطالعه‌ای که بر روی ۶۱ بیمار به صورت آینده‌نگر در طول ۴ سال در تایوان انجام گرفت، از ۶۱ بیمار متلا به تالاسمی، ۲۶ نفر (۴۲/۶٪) متلا به هپاتیت C بودند. به نظر می‌رسد علت این اختلاف تعداد ترانسفوزن‌های بیشتر در بیماران تایوانی بوده است بطوریکه این بیماران هر ۲-۳ هفته خون دریافت می‌کردند در صورتی که بیماران ما ماهانه جهت تزریق خون مراجعه می‌کردند (۱۳).

در مطالعه دیگری که در ایتالیا در سال ۱۹۹۴ به منظور تعیین شیوع هپاتیت C در بیماران متلا به تالاسمی که در نقاط مختلف جهان خون دریافت کرده‌اند انجام شد (۱)، شیوع کلی ۶٪ به دست آمد که در مقایسه با رقم به دست آمده در مطالعه ما (۲۳٪) فاصله بسیار دارد. بیشتر این بیماران ایتالیایی بودند و این نشان می‌دهد که سروپروالانس هپاتیت C در اهداء کنندگان خون در ایتالیا از

۱۱۳ بیمار متلا به تالاسمی در بیمارستان هاجر شهر کرد از اردیبهشت سال ۱۳۷۷ لغایت شهریور همان سال مورد مطالعه قرار گرفتند. از این تعداد، ۶۳ نفر (۵۵٪) مذکور و ۵۰ نفر (۴۴/۳٪) مؤنث بودند. از بین این بیماران ۲۶ نفر (شامل ۱۵ مرد و ۱۱ زن) Anti HCV مثبت بودند. از ۲۶ بیمار AntiHCV مثبت، یک مورد در اثر نارسایی قلبی فوت نموده و از مطالعه خارج شد، لذا ۲۵ بیمار متلا به هپاتیت C مجدداً با تست تأییدی RIBA مورد بررسی قرار گرفتند که در تمام بیماران مذبور تست RIBA نسل سوم مثبت گزارش شد. شیوع هپاتیت C در جمعیت مورد مطالعه ۲۳٪ برآورد گردید.

اکثر بیماران متلا به هپاتیت C در گروه سنی ۱۰-۲۰ سال قرار دارند (۱۴ نفر، ۵۳/۸٪). در گروه بیماران غیر متلا به هپاتیت C، فراوانی افراد در گروه سنی کمتر از ۱۰ سال بیشتر است (۶۴ نفر، ۷۳/۶٪).

با استفاده از آزمون فیشر، بین فاکتور سن و AntiHCV ارتباط معنی‌داری وجود دارد ($p < 0.01$) به طوریکه با افزایش سن میزان ابتلاء به هپاتیت در بیماران متلا به تالاسمی افزایش می‌یابد.

در ۲۶ بیمار تالاسمیک متلا به هپاتیت C، ۲۰ بیمار (۷۶/۹٪) بیش از ۲ واحد خون در هر بار تزریق دریافت نموده‌اند (هر واحد، ۱۵۰ cc) (جدول شماره ۱)

جدول ۱-توزیع فراوانی بیماران متلا به تالاسمی در دو گروه AntiHCV مثبت و منفی بر حسب تعداد واحدهای خون دریافتی

| گروه | تعداد واحد خون دریافتی | | | جمع |
|--------------|------------------------|----------|------------|----------|
| | کمتر از ۲ | ۲-۴ | بیشتر از ۴ | |
| (+) Anti HCV | (۱۰۰)۲۶ | (۷۹/۹)۲۰ | (۲۳/۱)۶ | (۱۰۰)۴۲ |
| (-) Anti HCV | (۱۰۰)۸۷ | (۲/۲۹)۲ | (۴۲/۵)۳۷ | (۵۵/۱)۴۸ |

با استفاده از آزمون کای دو، ارتباط معنی‌داری بین تعداد واحد خونهای دریافتی و ابتلاء به هپاتیت C به دست آمد بدین معنی که بیماران متلا به هپاتیت C در مقایسه با بیماران غیر متلا، خون بیشتری دریافت نموده‌اند ($p < 0.004$).

از ۲۶ بیمار متلا به هپاتیت C، ۲۲ نفر (۸۴/۶٪) افزایش ALT داشتند در صورتی که از ۸۷ بیمار تالاسمیک غیر

باشد که دهنگان خون در آن مقطع زمانی، برای AntiHCV به طور روتین چک نمی‌شدند، لذا ارتباطی بین سن و تعداد دفعات تزریق خون و ابتلا به هپاتیت C به دست نیامده است.

در پایان توصیه می‌شود بیماران مبتلا به تالاسمی که در این تحقیق تستهای سرولوژیکی آنها منفی گزارش شده است، ۳-۶ ماه دیگر مجدداً از نظر AntiHCV بررسی شوند زیرا بین شروع عفونت و تعیین آنتی‌بادیهای در گردش خون مدت زمانی حدود ۱۲ هفته لازم است (۱). همچنین انجام آزمایشات PT و آلبومین در این بیماران الزاماً است چرا که ALT شاخص مناسبی جهت بررسی شدت آسیب کبدی نمی‌باشد (۱). بیوپسی کبد در بیماران تالاسمیک مبتلا به هپاتیت C اجتناب ناپذیر است و در صورت وجود اندیکاسیون، شروع درمان با ایترافرون در بیماران مبتلا توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

مؤلفین مراتب قدردانی خود را از معاونت پژوهشی وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد که امکانات مالی جهت این پژوهه را فراهم کردن اعلام می‌دارند. بدین وسیله از زحمات سرکار خانم فاطمه حیدریان (اترن) که در انجام این پژوهش (پایان‌نامه) صمیمانه ما را یاری نمودند قدردانی می‌شود. همچنین از آقای دکتر مجید آویزگانی که در نگارش مقاله راهنمایی‌های ارزندهای نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

REFERENCES

- 1- Angelucci E. Antibodies to hepatitis C virus in thalassemia. *Hematologica* 1994; 79(4): 353-5.
- 2- Bhattacharya DK, Bhattacharjee S, Lahiri P, et al. Prevalence of hepatitis C in transfusion dependent thalassemics and hemophiliacs. *Indian J Med Res* 1991; 94: 430-2.
- 3- Chandhary RK, Andonov A, Maclean C. Detection of hepatitis virus infection with recombinant immunoblot assay. *J Clin Lab Anal* 1993; 7(3): 164-7.
- 4- Chang MH, Lee CY, Chen DS, et al. Minimal role of hepatitis C virus infection in childhood liver disease in an area hyperendemic for hepatitis B infection. *J Med Virol* 1993; 40:322-5.
- 5- Chang MH, NI YH, Hawang LH, et al. Longterm clinical and virologic outcome of primary hepatitis C virus infection in children : a prospective study. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13: 769-73.
- 6- Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, et al. Isolation of a c-DNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359-62.

رقم بالایی برخوردار است. شاید این موضوع از آن جا ناشی شود که اکثر این بیماران قسمت اعظم خون دریافتی خود را زمانیکه AntiHCV به طور روتین چک نمی‌شد، دریافت کرده‌اند.

در مطالعه دیگری در کلکته (۲) شیوع هپاتیت C در مقایسه با بیماران ما کمتر گزارش شد (۱۴/۳٪ در مقابل ۲۳٪). به طور کلی در کتب مرجع شیوع هپاتیت C در بیماران مبتلا به تالاسمی، ۱۰-۵۰٪ گزارش شده است (۱۵ و ۱۶) که در مطالعات مختلف نیز این آمار تأیید می‌شود (۲، ۴، ۷، ۱۳، ۱۰).

از نظر سن و میزان دریافت خون و سطح ALT بین مطالعه ما و سایر مطالعات نتایج متغیری حاصل شد. در مطالعه‌ای که در تایوان صورت گرفت نتایج مشابهی به دست آمد به طوری که بیماران مبتلا به هپاتیت C از سن بالاتر برخوردار بودند و خون بیشتری دریافت کرده بودند و میزان ALT در آنها در مقایسه با بیماران فاقد هپاتیت بالاتر بود (۱۳). گرچه سطح ALT در بیماران مبتلا به هپاتیت در مطالعه ما و مطالعه مذکور نسبت به بیماران فاقد هپاتیت بالاتر بود ولی ALT به تهابی شاخص خونی خوبی جهت تعیین وخامت بیماری نمی‌باشد. در این راستا بیوپسی کبد کمک کننده خواهد بود. این در حالیست که برخی بیماران مبتلا به هپاتیت C (تشخیص داده شده با بیوپسی کبد)، از آنژیمهای کبدی نرمال برخوردار بودند (۱۱).

در مطالعه‌ای که در کلکته در سال ۱۹۹۱ بر روی بیماران مبتلا به تالاسمی و هموفیلی صورت گرفت (۲). ارتباط معنی‌داری از نظر سن و میزان دریافت خون و ابتلاء به هپاتیت C یافت نشد. شاید اختلاف موجود به این علت

- 7- De-Montalembert M, Costagliola DG, Letrere JJ, et al. Prevalence of marker for human immunodeficiency virus type 1 and 2, human T lymphotrophic virus type 1, cytomegalovirus, and hepatitis B and C virus in multiply transfused thalassemia patients. *Transfusion* 1992; 32(6) : 509-12.
- 8- Dienstag JL, Isselbacher KJ. Acute viral hepatitis. In : Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD(eds). *Harrison's principles of internal medicine*. McGraw Hill Company. New York: USA, 1998; 1681-1701.
- 9- Choo QL, Kuo G, Alter Hj, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989; 244; 362-4.
- 10- Lavine JE, Bull FG, Millward-Sadler GH. Acute viral hepatitis. In: Millward-Sadler GH, Wright R, Arthur MJP(eds). In: *Wright's liver and biliary diseases*. WB Saunders Company. London: UK, 1995; 737-50.
- 11- Lemon SM, Brown EA. Hepatitis C virus. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE(eds). *Principles and practice of infectious diseases* Churchill Livingstone Company. New York: USA, 4th ed,1995;1477-83.
- 12- Lin KH, Lin KS. Allogenic bone marrow transplantation for thalassemia in Taiwan: factors associated with graft failure. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1989;11: 417-23.
- 13- Ni YH, Chang MH, Lin KH, et al. Hepatitis C viral infection in thalassemic children; clinical and molecular studies. *Pediatr Res* 1996;36(2): 323-8.
- 14- Ni Yh, Lin HH, Chen PJ, et al. Temporal profile of hepatitis C virus antibody and genome in infants born to mothers infected with hepatitis C virus but without human immunodeficiency virus coinfection. *J Hepatol* 1994;20: 641-5.
- 15- Ockner RK. Acute viral hepatitis. In: Bennett JC, Plum J(eds). *Cecil essential of medicine*. WB Saunders Company. Philadelphia: USA,1997; 329-35.
- 16- Sherlock S. Virus hepatitis. In: Sherlock Schizophrenic, Koiley J(eds). *Diseases of liver and biliary system*. Blackwell Scientific Publicatinos. London, UK,1997; 262-330.
- 17- Wilber JC. Hepatitis C virus. In: Murray PR, Baron EJ(eds). *Manual of clinical microbiology*. ASM Press, Washington. 1996; 1050-5.