

## بررسی فراوانی هیپاتیت C به روش RT-PCR در مبتلایان به تالاسمی و هموفیلی استان اصفهان ۱۳۸۴

نقیسه سادات نقوی<sup>۱</sup>، کتایون صمیمی راد<sup>۲\*</sup>، منصور صالحی<sup>۳</sup>، مهرناز شانه ساز زاده<sup>۴</sup>، حمید هورفر<sup>۵</sup>، رخشنده ناطق<sup>۶</sup>

۱. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات
۲. Ph.D میکروبیولوژی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳. Ph.D ژنتیک مولکولی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۴. کارشناس ارشد بیوتکنولوژی، آزمایشگاه تحقیقاتی دکتر مهاجری اصفهان
۵. پزشک عمومی، بیمارستان سیدالشهداء (ع) اصفهان
۶. فوق تخصص ویروس شناسی، استاد دانشگاه علوم پزشکی تهران

\* نشانی برای مکاتبه: دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، گروه ویروس شناسی، تلفن ۸۸۹۵۰۵۹۵، نمابر ۶۶۴۶۲۲۶۷،

[ksamimirad@sina.tums.ac.ir](mailto:ksamimirad@sina.tums.ac.ir)

دریافت مقاله: شهریور هشتاد و پنج پذیرش برای چاپ: آذر هشتاد و پنج

### چکیده

**سابقه و هدف:** بیماران هموفیلی و تالاسمی در معرض خطر بالای ابتلاء به ویروس هیپاتیت C هستند. در این مطالعه آلودگی به HCV در بیماران هموفیلی و تالاسمی anti-HCV مثبت استان اصفهان به روش جستجوی RNA با آزمایش RT-PCR و فاکتورهای مؤثر بر میزان ابتلاء بررسی شد.

**روش کار:** سرم خون ۱۰۳ بیمار هموفیلی و تالاسمی anti-HCV مثبت با روش RT-PCR از نظر حضور HCV RNA آزمایش گردید.

**یافته ها:** شیوع هیپاتیت C در بیماران هموفیلی و تالاسمی مورد مطالعه به ترتیب ۶۰٪ و ۵۸٪ بود. نوع بیماری تالاسمی یا هموفیلی و میانگین سن در بین بیماران HCV RNA مثبت و منفی اختلاف معنی داری نداشت. شانس ابتلاء در بیمارانی که فقط در استان اصفهان خون یا فرآورده دریافت کرده بودند یک پنجم بیمارانی بود که در محل های دیگر نیز تزریق مکرر خون یا فرآورده داشته اند. در بیماران هموفیلی از نظر جنسیت اختلاف معنی داری بین بیماران HCV RNA مثبت و منفی مشاهده شد ( $p < 0.03$ ). احتمال باقی ماندن ویروس پس از درمان در بیمارانی که طی دوره کوتاه با اینترفرون و ریبوویرین درمان شده بودند نسبت به بیمارانی که دوره درمان یک ساله داشتند ۲/۶ برابر بود.

**نتیجه گیری:** فراوانی نسبی نتایج مثبت PCR در بیماران مورد مطالعه کمتر از فراوانی در کشور های غربی بود که می تواند به علت مصرف زیاد فاکتورهای کنسنتره ویروس زدایی نشده در این کشورها باشد، تعیین ژنوتایپ ویروس برای درمان مؤثر و مشخص نمودن چهره اپیدمیولوژی مولکولی HCV در این استان ضروری است.

**واژگان کلیدی:** ویروس هیپاتیت C، هموفیلی، تالاسمی، تزریق خون

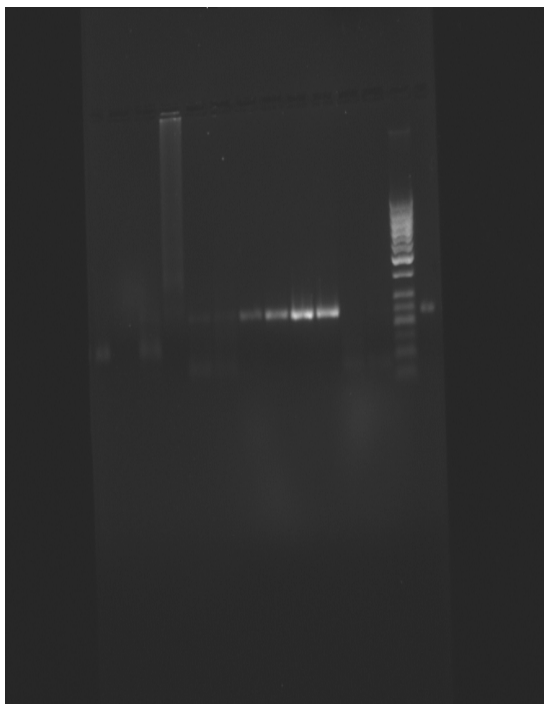
### مقدمه

فرآورده های انعقادی دیگری مانند Fresh frozen plasma (FFP) و Cryoprecipitate (Cryo) نیز دریافت می کردند. این فرآورده ها از یک واحد خون تهیه می شدند و قبل از در دسترس قرار گرفتن تست های غربال گری برای آنتی بادی anti-HCV از نظر آلودگی به ویروس هیپاتیت C مورد بررسی قرار نمی گرفتند (۱۰ و ۱۱). بدین ترتیب این فرآورده هادر صورت آلوده بودن به HCV باعث آلودگی فرد دریافت کننده می شدند.

ویروس هیپاتیت C (HCV) یکی از ویروس های منتقل شونده از طریق انتقال خون می باشد. گزارش های موجود فراوانی آنتی بادی بر علیه ویروس هیپاتیت C را در اهداء کنندگان خون در ایران ۱۲٪ تا ۵۹٪/۱ نشان می دهند (۴-۱). بیماران هموفیلی از گروه های در معرض خطر بالا ابتلاء به هیپاتیت C هستند (۵ و ۶). تزریق فاکتورهای انعقادی کنسنتره که از هزاران پلاسما تهیه می شدند و روند ویروس زدایی روی آنها صورت نمی گرفت، از اوایل دهه ۱۹۷۰ تا سال ۱۹۸۵ موجب انتقال ویروس هیپاتیت C به بیماران هموفیلی شد (۱۰-۷). در طی این مدت بیماران هموفیلی

مراحل b تا d ۴۰ بار تکرار شد. محصولات مرحله اول و مرحله دوم PCR با استفاده از ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد. با توجه به این که قطعه مورد نظر در ژنوم HCV با روش Nested PCR تکثیر می شد، محصول مرحله اول PCR دارای اندازه ۳۰۵bp و محصول مرحله دوم PCR دارای اندازه ۲۳۴bp بود که با توجه به موقعیت قرار گرفتن باندها نسبت به DNA مارکر بر روی ژل الکتروفورز مشخص می شد. تصویری از ژل الکتروفورز محصولات به دست آمده در دو مرحله از PCR در شکل ۱ نمایش داده شده است. یافته ها با استفاده از آزمون مربع کای و نسبت احتمال Odds ratio تجزیه و تحلیل شد.

شکل ۱. تصویر ژل الکتروفورز آگارز محصولات PCR. A: مارکر حاوی قطعات DNA با فواصل اندازه ۵۰bp. B، C، D، E: قطعه تکثیر شده از ژنوم HCV با اندازه ۲۳۴bp (محصول مرحله دوم PCR). F: قطعه تکثیر شده از ژنوم HCV با اندازه ۳۰۵bp (محصول مرحله اول PCR). G: محصول PCR نمونه کنترل منفی.



### یافته ها

۵۰ بیمار مبتلا به هموفیلی و ۵۳ بیمار مبتلا به تالاسمی ماژور با مشخصات نشان داده شده در جدول ۱ مورد مطالعه قرار گرفتند. تمام این بیماران دارای آزمایش Elisa مثبت از نظر انتی بادی بر علیه هیپاتیت C بودند. از ۵۰ بیمار مبتلا به هموفیلی در ۱۳ نفر و از ۵۳ بیمار مبتلا به تالاسمی در ۸ نفر آزمایش RIBA انجام گرفته بود.

بیماران تالاسمی که دریافت کنندگان دائمی خون می باشند نیز از گروه های در معرض خطر بالا ابتلاء به ویروس هیپاتیت C هستند (۵، ۶ و ۱۲). HCV عامل اصلی هیپاتیت های پس از تزریق خون و بیماری مزمن کبدی در بیماران تالاسمی است که بارها خون های غربال نشده از نظر ویروس هیپاتیت C را دریافت کرده اند و به همین دلیل عفونت HCV در سراسر دنیا در این بیماران مشاهده می شود (۱۳ و ۱۴). غربال گری خون های اهدایی از نظر حضور آنتی بادی علیه HCV در دنیا از سال ۱۹۹۲ (۱۵) و در ایران از سال ۱۳۷۵ به روش ELISA آغاز شده است (۱۶). گزارش ها نشان می دهند حدود ۶۰ تا ۸۰ درصد موارد آلودگی های جدید هیپاتیت C به حالت مزمن بیماری پیشرفت می کنند. این بیماران با خطر ابتلاء به سیروز کبدی (۲۱ درصد موارد) و کارسینوم هپاتوسلولار (یک تا ۵ درصد موارد) روبرو هستند (۱۷). هیپاتیت C عامل مرگ و میر بالایی در بیماران هموفیلی و تالاسمی به علت آسیب های کبدی می باشد، به طوری که گاهی اوقات بیماری کبدی ایجاد شده مشکل ساز تر از اختلال خونی بیمار بوده است (۱۸ و ۱۹). در مطالعه حاضر میزان شیوع عفونت ویروسی هیپاتیت C در بیماران هموفیلی و تالاسمی anti-HCV مثبت استان اصفهان با انجام آزمایش PCR دومرحله ای مورد بررسی قرار گرفت.

### روش کار

این مطالعه به روش توصیفی از مهر ۱۳۸۳ تا تیر ۱۳۸۴ روی بیماران مبتلا به تالاسمی و هموفیلی مراجعه کننده بیمارستان سید الشهداء(ع) اصفهان انجام گرفت. این بیمارستان محل ارجاع کلیه بیماران تالاسمی و هموفیلی برای دریافت خون و فراورده های آن در شهرستان اصفهان است. بیماران دارای آزمایش مثبت ELISA/ELISA همراه RIBA از نظر آنتی بادی بر علیه هیپاتیت C وارد مطالعه شدند. بعد از اخذ اطلاعات دموگرافیک از هر بیمار مقدار ۲ میلی لیتر از خون گرفته شد و پس از سانتریفوژ نمودن سرم فاقد گلبول قرمز یا لیز سلولی جدا گردید. در مرحله بعد RNA موجود در نمونه ها استخراج و از روی آن cDNA تهیه شد (۲۰). واکنش PCR دومرحله ای ( Nested polymerase chain reaction) با استفاده از یک جفت پرایمر بیرونی (پرایمرهای شماره ۱ و ۲) و یک جفت پرایمر درونی (پرایمرهای شماره ۳ و ۴) انجام پذیرفت. این پرایمرها قطعه ۲۳۴ نوکلئوتیدی از 5'NCR ویروس را تکثیر می کنند (۲۱):

پرایمر شماره ۱ ( با غلظت ۱۹۶pmol/μl):

3'-5'- CCC TGT GAG GAA CTCTG TCT TCA CGC

پرایمر شماره ۲ (با غلظت ۲۲۶pmol/μl):

5'- GCT CAT GT GCA CGG TCT ACG AGA CCT -3'

پرایمر شماره ۳ (با غلظت ۱۸۶pmol/μl):

3'-5'- CAC TCG CAA GCA CCC TAT CAG GCA GT

پرایمر شماره ۴ (با غلظت ۵۶۶pmol/μl):

3'-5'- TCT AGC CAT GGC GTT AGT A G AGT GT

چرخه حرارتی زیر برای انجام هر دو مرحله PCR به کار برده شد: 94

a: 94 °C, 1 min . °C, 1 min

b: 94 °C, 1 min . °C, 1 min

c: 55.5°C, 58 sec . °C, 1min

d: 72°C, 5min و 72°C, 1min

e: 72°C, 5min و 72°C, 1min

### بحث

مطالعه حاضر در ۱۰۳ بیماران هموفیلی و تالاسمی استان اصفهان انجام شد. این بیماران جهت دریافت خون و فرآورده های خونی به مرکز اصلی واقع در بیمارستان سیدالشهداء اصفهان مراجعه مداوم دارند. بیماران این مرکز سالانه از نظر ابتلاء به هیپاتیت C با آزمایشات سرولوژیک (عمدتاً) آزمایش (ELISA) مورد ارزیابی قرار می گیرند. نتایج آزمایش PCR در این بررسی نشان دهنده حضور HCV RNA در خون ۵۸٪ از بیماران تالاسمی است که قبلاً تست سرولوژیک ELISA آنها مثبت گزارش شده بود. در مطالعه ای در یونان نیز ۵۸٪ از بیماران تالاسمی anti-HCV مثبت واجد HCV RNA در آزمایش PCR شناسایی شده اند (۲۲) و این فراوانی در لبنان ۳۴/۵٪ گزارش شده است (۶). همچنین ۶۰٪ از بیماران هموفیلی anti-HCV مثبت مورد بررسی واجد HCV RNA با آزمایش PCR بودند. در مقایسه، در مطالعه ای در لهستان ۴۱٪ از بیماران هموفیلی anti-HCV مثبت واجد HCV RNA در آزمایش PCR شناسایی شده اند (۲۳) و در ایتالیا این فراوانی ۸۶/۳٪ گزارش شده است (۸). اختلافی که در شیوع عفونت با ویروس هیپاتیت C در بیماران تالاسمی و هموفیلی کشورهای مختلف مشاهده می شود می تواند تحت تاثیر عوامل متعددی باشد. به عنوان مثال می توان از اختلاف در حساسیت و دقت تکنیک PCR استفاده شده برای تشخیص HCV RNA در تحقیقات انجام شده نام برد. همچنین، گزارش های موجود نشان می دهد حدود ۹ تا ۲۰ درصد افراد بزرگسال و ۱۱ تا ۴۵ درصد کودکان خود به خود از آلودگی به HCV پاک می شوند (۲۴). به این ترتیب اختلاف در گروه سنی بیماران بررسی شده در تحقیقات فوق می تواند دلیل دیگر فراوانی متفاوت HCV RNA در این مطالعات باشد. به علاوه، درمان بیماری در کشورهای مختلف دنیا که شرایط متفاوتی از نظر اقتصادی و امکانات آزمایشگاهی دارند با کیفیت مشابه صورت نمی گیرد، یعنی در کشورهای مختلف دنیا درصد افراد آلوده به HCV که می توانند با داروهای جدید و بر اساس روش درمانی استاندارد (تعیین تایپ و بار ویروس در خون قبل از درمان به منظور تعیین مدت درمان و دز دارو) تحت درمان قرار بگیرند و از آلودگی پاک شوند، متفاوت می باشد. به این ترتیب درمان هم می تواند به عنوان یک فاکتور در میزان شیوع متفاوت HCV RNA در بیماران هموفیلی و تالاسمی anti-HCV مثبت کشورهای مختلف موثر باشد. نکته بعدی نوع فرآورده مصرفی در بیماران هموفیلی است. این بیماران در کشورهای پیشرفته حدود ۱۵ سال با فاکتورهای کنسانتره و ویروس زدایی نشده مرتباً درمان می شدند. این امر منجر به آلودگی اکثر بیماران هموفیلی و در بعضی موارد ۱۰۰٪ این بیماران شد و بسیاری از بیماران با تزریق اول این فاکتورها به هیپاتیت C مبتلا شدند (۹ و ۱۰). اما در طی سال های فوق در کشورهای جهان سوم بیماران هموفیلی به علت در دسترس نبودن و گران بودن فاکتورهای کنسانتره، فرآورده های تهیه شده از یک واحد خون داخلی را مصرف می کردند (۶). به این ترتیب احتمال آلودگی مجدد در کشورهای جهان سوم برای آن دسته از بیماران هموفیلی anti-HCV مثبت که خودبخود از ویروس پاک می شدند در مقایسه با بیماران هموفیلی کشور های پیشرفته به مراتب کمتر بود که می تواند علت دیگری برای فراوانی متفاوت HCV RNA در تحقیقات کشورهای مختلف باشد. همانطور که قبلاً هم ذکر شد ۹ تا ۲۰ درصد افراد بزرگسال و ۱۱ تا ۴۵ درصد کودکان خودبه خود از آلودگی با ویروس پاک می شوند (۲۴).

جدول ۱: مشخصات ۱۰۲ بیمار هموفیلی و تالاسمی مورد بررسی در مطالعه

| خصوصیات                                    |                    |
|--------------------------------------------|--------------------|
| تعداد بیماران هموفیلی                      |                    |
| مذکر (%)                                   | ۴۷ (۹۴)            |
| مؤنث (%)                                   | ۳ (۶)              |
| نوع هموفیلی                                |                    |
| هموفیلی A (%)                              | ۴۳ (۸۶)            |
| هموفیلی B (%)                              | ۳ (۶)              |
| هموفیلی ون ویلبراند (%)                    | ۳ (۶)              |
| نقص در فاکتورهای انعقادی (%)               | ۱ (۲)              |
| سن (سال)                                   |                    |
| محدوده                                     | ۴ تا ۷۴            |
| میانگین                                    | ۲۴/۶ ± ۱۱/۴        |
| تاریخ اولین تزریق فاکتور                   |                    |
| قبل از ۱۳۷۵ (%)                            | ۴۰ (۸۰)            |
| بعد از ۱۳۷۵ (%)                            | ۱۰ (۲۰)            |
| تعداد فاکتورهای انعقادی کنسانتره تزریق شده |                    |
| محدوده                                     | ۱۰۸۰۰۰ تا ۱۲۶۷۲۰۰  |
| میانگین                                    | ۴۴۹۲۸۰ ± ۲۹۵۸۱۹/۰۶ |
| مدت درمان با فاکتور (سال)                  |                    |
| محدوده                                     | ۴ تا ۷             |
| میانگین                                    | ۲۱/۶۷ ± ۸/۷۲       |
| تعداد بیماران تالاسمی                      |                    |
| جنس                                        |                    |
| مذکر (%)                                   | ۳۲ (۶۰)            |
| مؤنث (%)                                   | ۲۱ (۴۰)            |
| سن (سال)                                   |                    |
| محدوده                                     | ۳ تا ۶             |
| میانگین                                    | ۲۰/۶ ± ۵/۳         |
| تاریخ اولین تزریق خون                      |                    |
| قبل از ۱۳۷۵ (%)                            | ۴۹ (۹۲/۵)          |
| بعد از ۱۳۷۵ (%)                            | ۴ (۷/۵)            |
| تعداد واحدهای خون تزریق شده                |                    |
| محدوده                                     | ۱۹۴ تا ۱۳۶۸        |
| میانگین                                    | ۶۱۸/۶۳ ± ۲۴۴/۷۵    |
| مدت درمان با خون (سال)                     |                    |
| محدوده                                     | ۳ تا ۸             |
| میانگین                                    | ۱۸/۸۲ ± ۵/۸۲       |
| سابقه طحال برداری                          |                    |
| بلی (%)                                    | ۱۲ (۲۲/۶)          |
| خیر (%)                                    | ۴۱ (۷۷/۴)          |

از ۵۰ بیمار مبتلا به هموفیلی ۳۰ نفر دارای نتیجه مثبت PCR بودند. در ۱۱ نفر از ۱۳ بیمار دارای آزمایش RIBA مثبت این گروه نتیجه PCR مثبت بود. از ۵۳ بیمار مبتلا به تالاسمی ماژور ۳۱ نفر، شامل ۸ بیمار دارای نتیجه مثبت RIBA، نتیجه آزمایش PCR مثبت شد.

در بیماران مبتلا به هموفیلی تعداد واحد فاکتور های خونی تزریق شده (OR = ) و محل دریافت این فاکتور ها (OR = ۵/۵) و در بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور محل دریافت خون (OR = ۲/۴) و تاریخ اولین تزریق خون (OR = ۲/۳) مهمترین عوامل خطر ابتلا به هیپاتیت C برآورد شد (جدول ۲).

مطالعات نشان می دهد میان ژنوتایپ ویروس هپاتیت C و نتایج کلینیکی درمان رابطه عمیقی وجود دارد. به عنوان مثال، آلودگی با هپاتیت C از انواع ۱ و ۴ می تواند منجر به بیماری شدیدتر و پاسخ گویی کمتر به درمان شود، درحالی که موارد آلودگی با انواع ۲ و ۳ ممکن است در مدت کوتاهتری درمان شوند (۲۷، ۲۸). در بررسی حاضر مشخص گردید دوره درمان یک ساله با انترفرون و ریبویرین احتمال بازگشت مجدد بیماری را به خصوص در بیماران هموفیلی (به نسبت ۲/۵ برابر) کاهش داده است. البته برای نتیجه گیری قطعی، مطالعه بر روی ژنوتایپ ویروس های ایجاد کننده بیماری ضروری است، اما با توجه به این که تایپ غالب ویروس هپاتیت C در ایران Ia (۴۷٪) تشخیص داده شده است (۳) و با توجه به این که تایپ Ia ویروس نسبت به درمان مقاومت نشان می دهد، اغلب بیماران مبتلا نیاز به درمان طولانی مدت و کامل و با دز بالاتر ریبویرین دارند.

لازم به ذکر است در دو جمعیت مورد بررسی ۳ بیمار وجود داشتند که بعد از سال ۱۳۷۵ دریافت خون یا فرآورده خونی را آغاز کرده بودند و آزمایش PCR آنها از نظر حضور HCV RNA مثبت به دست آمد. یکی از آنها بیمار هموفیلی است که علاوه بر دریافت فاکتورهای تهیه شده از یک واحد خون، سابقه مصرف فاکتورهای کنسانتره و ویروس زدایی نشده داخل را دارد. از آنجایی که برای این بیمار هیچ فاکتور خطر دیگری برای آلوده شدن با ویروس به دست نیامد احتمالاً آلودگی می تواند در اثر مصرف فاکتورهای کنسانتره و ویروس زدایی نشده داخل یا دریافت فاکتورهای تهیه شده از یک واحد خون باشد. ۲ بیمار دیگر یکی هموفیلی و دیگری تالاسمی بودند. بیمار هموفیلی فقط سابقه مصرف فاکتورهای تهیه شده از یک واحد خون را داشت. از آنجایی که برای این دو بیمار هیچ فاکتور خطر دیگری که راه احتمالی برای آلوده شدن آنها باشد مشاهده نشد، احتمالاً خون یا فرآورده خونی آلوده به HCV باعث ابتلاء این دو بیمار به ویروس هپاتیت C شده است. اگر چه انجام برنامه غربالگری از سال ۱۳۷۵ در ایران میزان خطر آلودگی به این ویروس را بسیار کاهش داده است، اما هنوز احتمال انتقال ویروس از طریق تزریق خون های اهدایی وجود دارد (۵، ۲۹ و ۳۰).

از آنجایی که اگر فرد آلوده به HCV در دوره پنجره (مدت زمان بین ورود ویروس به بدن تا پیدایش آنتی بادی قابل تشخیص) باشد، آزمایش ELISA قادر به شناسایی عفونت نیست و آزمایش بر روی اکثر خون های اهدایی فقط با انجام آزمایشات سرولوژیک صورت می گیرد، جواب منفی کاذب به دست آمده از بیمار پی گیری نشده و مثبت بودن این دسته از خون های اهدایی مشخص نمی شود. به این ترتیب برای کاهش موارد فوق باید از کیت های ELISA و RIBA با حساسیت و اختصاصیت بالا استفاده شود و حداقل در موارد مشکوک تست PCR برای تایید نتیجه منفی به دست آمده از تست ELISA انجام پذیرد. به علاوه، کارکنان آزمایشگاه نیز باید تجربه و مهارت کافی برای انجام آزمایشات و تفسیر نتایج را داشته باشند.

### تشکر و قدردانی

هزینه این تحقیق توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان در اختیار پژوهشگران طرح قرار داده شده است. ضمن تشکر از این معاونت محترم، از ریاست محترم بیمارستان سیدالشهداء (ع) اصفهان و پرسنل بخش تالاسمی و هموفیلی این بیمارستان به علت همکاری در تهیه نمونه های بیماران قدردانی می نمایم. همچنین از جناب آقای دکتر محمدرضا مهاجری و مدیرمحترم وقت گروه ژنتیک دانشگاه علوم پزشکی اصفهان جناب آقای دکتر رسول صالحی و کارشناسان محترم این بخش جهت همکاری صمیمانه در انجام این تحقیق کمال تشکر را داریم. همچنین از آقای احسان رزاقی جهت همکاری در انجام تجزیه و تحلیل آماری تشکر می نمایم.

در تحقیق حاضر ۴۲٪ بیماران تالاسمی و ۴۰٪ بیماران هموفیلی anti-HCV مثبت فاقد HCV RNA در تست PCR تشخیص داده شدند. عوامل مختلفی می توانند در به دست آمدن این نتایج دخالت داشته باشند. از جمله این عوامل احتمال پایین بودن بار ویروس در خون های مورد آزمایش تا حد پایین تر از سطح قابل تشخیص با تست PCR می باشد. همچنین درمان بیماری توسط برخی از بیماران می تواند باعث پاک شدن آنها از ویروس و عامل منفی شدن تست PCR در این بیماران باشد. از ۴۲ بیماری که نتیجه PCR آنها منفی به دست آمد ۱۳ بیمار (۳۱٪) سابقه درمان با اینترفرون و ریبویرین داشته اند. علاوه بر آن، مطالعات نشان می دهد احتمال پاک شدن خودبخود از هپاتیت C وجود دارد (۲۴). بدین ترتیب نتیجه منفی تست PCR در درصدی از بیماران anti-HCV مثبت در این بررسی به علت پاک شدن خود به خودی این بیماران از آلودگی است. عامل دیگری که علت عمده به دست آمدن نتایج منفی PCR در بیماران anti-HCV مثبت در این بررسی می باشد وجود موارد مثبت کاذب تست ELISA است. در این تحقیق برای تعداد محدودی از بیماران anti-HCV مثبت آزمایش تاییدی RIBA انجام شده بود. در نتیجه اکثر بیماران دارای جواب ELISA مثبت کاذب شناسایی نشدند. روش ELISA به علت احتمال به دست آمدن جواب های مثبت کاذب و برخی پاسخ های منفی کاذب، که ناشی از قرار داشتن بیمار در مرحله پنجره است، روش کاملاً مطمئنی به عنوان تنها تست سنجش HCV نمی باشد. به علاوه، کیت های مورد استفاده برای تست ELISA ممکن است از دقت بالایی برخوردار نباشند و افراد آزمایش کننده نیز تجربه و مهارت کافی برای انجام آزمایشات و تفسیر نتایج را نداشته باشند. بنابراین، لازم است تست های تاییدی مانند آزمایش های RIBA یا PCR برای تایید نتیجه مثبت به دست آمده انجام پذیرد (۲۵ و ۲۶). در گروه بیماران مورد مطالعه تنها ۱۶/۷٪ بیمارانی که تست PCR آنها منفی شده بود دارای یک جواب مثبت RIBA نیز بودند که همه این بیماران قبلاً بیماری هپاتیت C خود را درمان نموده بودند و یکی از دلایل به دست آمدن پاسخ منفی در آزمایش PCR در این بیماران می تواند درمان بیماری با انترفرون و ریبویرین باشد.

در این بررسی تاثیر برخی عوامل خطر بر روی شانس ابتلاء به بیماری هپاتیت C در نمونه های مورد بررسی مطالعه شد. در بیماران هموفیلی افزایش مدت درمان با فرآورده های خونی و افزایش تعداد واحدهای فاکتور انعقادی تزریق شده موجب افزایش شانس ابتلاء به هپاتیت C شده اند. در بیماران تالاسمی مورد بررسی شانس ابتلاء به هپاتیت C در بیمارانی که اولین تزریق خون خود را قبل از سال ۱۳۷۵ داشته اند ۲/۳ برابر نسبت به بیمارانی است که بعد از سال ۱۳۷۵ شروع به تزریق خون نموده اند. با توجه به این که طرح غربالگری خون های اهدایی از نظر آلوده بودن به ویروس هپاتیت C از سال ۱۳۷۵ آغاز شده است، امکان این افزایش شانس خطر وجود دارد. همچنین مشخص شد در هر دو گروه از بیماران شانس ابتلاء به هپاتیت C در بیمارانی که خون یا فرآورده خونی مورد استفاده خود را فقط از مرکز واقع در بیمارستان سیدالشهداء استان اصفهان تهیه کرده اند، نسبت به بیمارانی که به صورت غیر متمرکز از نقاط مختلف کشور خون یا فرآورده دریافت نموده اند کمتر می باشد. در مطالعه ای در انگلستان نیز مشخص شده است تزریق قانونمند، متمرکز و کنترل شده می تواند احتمال خطر ابتلاء به هپاتیت C را در بیماران تالاسمی کاهش دهد (۱۲).

## جدول ۲. توزیع بیماران هموفیلی و تالاسمی ماژور بر اساس عوامل خطر ابتلا به هپاتیت C در آنان . اصفهان ۱۳۸۴

| OR(90%CI)          | P-value | عامل خطر در بیماران تالاسمی  | OR(90%CI)         | P-value | عامل خطر در بیماران هموفیلی    |
|--------------------|---------|------------------------------|-------------------|---------|--------------------------------|
|                    |         | سن بیمار                     |                   |         | سن بیمار                       |
|                    | ۱       | کمتر از ۱۰ سال               | ۱/۴۳ (۰/۲۶ و ۷/۷) | ۱       | کمتر از ۱۵ سال                 |
| ۱/۴۷ (۰/۲۱ و ۱۰/۲) | ۱       | بیشتر از ۱۰ سال              |                   | ۰/۶۹    | بیشتر از ۱۵ سال                |
|                    |         | اولین تزریق خون              |                   |         | اولین تزریق فراورده            |
|                    | ۱       | بعد از سال ۱۳۷۵              | ۱/۲ (۰/۱۷ و ۸/۴)  | ۱       | بعد از سال ۱۳۷۵                |
| ۲/۳ (۰/۲۳ و ۱۸/۷)  | ۰/۵۸    | قبل از سال ۱۳۷۵              |                   | ۱       | قبل از سال ۱۳۷۵                |
|                    |         | جنس بیمار                    |                   |         | جنس بیمار                      |
|                    | ۱       | زن                           | ۱/۸ (۰/۱ و ۳۲/۰)  | ۱       | زن                             |
| ۱/۴۸ (۰/۳۵ و ۶/۳)  | ۰/۷     | مرد                          |                   | ۱       | مرد                            |
|                    |         | مدت درمان با خون             |                   |         | مدت درمان با فراورده های خونی  |
|                    | ۱       | کمتر از ۱۱ سال               |                   | ۱       | کمتر از ۱۳ سال                 |
| ۱/۰۵ (۰/۱۶ و ۶/۷)  | ۱       | بیشتر از ۱۱ سال              | ۲/۱ (۰/۴۳ و ۱۰/۴) | ۰/۴     | بیشتر از ۱۳ سال                |
|                    |         | تعداد واحدهای خون تزریق شده  |                   |         | تعداد واحدهای فاکتور تزریق شده |
|                    | ۱       | کمتر از ۳۰۰ واحد             |                   | ۱       | کمتر از ۲۵۰۰۰ واحد             |
| ۱/۷۵ (۰/۲۵ و ۱۲/۰) | ۰/۶     | بیشتر از ۳۰۰ واحد            | ۳/۰ (۰/۵۶ و ۱۶/۱) | ۰/۲۳    | بیشتر از ۲۵۰۰۰ واحد            |
|                    |         | محل دریافت خون               |                   |         | محل دریافت فاکتور              |
|                    | ۱       | فقط مرکز سیدالشهداء          |                   | ۱       | فقط مرکز سیدالشهداء            |
| ۲/۴ (۰/۵ و ۱۰/۸)   | ۰/۳     | مرکز سیدالشهداء و سایر مراکز | ۵/۵ (۰/۹۷ و ۳۰/۶) | ۰/۰۷    | مرکز سیدالشهداء و سایر مراکز   |
|                    |         | وضعیت درمان هپاتیت C         |                   |         | وضعیت درمان هپاتیت C           |
|                    | ۱       | درمان کرده                   | ۲/۵ (۰/۴ و ۱۵/۱)  | ۱       | درمان کرده                     |
| ۱/۰۲ (۰/۲۳ و ۴/۴)  | ۱       | درمان نکرده                  |                   | ۳/۶     | درمان نکرده                    |
|                    |         | سابقه طحال برداری            |                   |         |                                |
|                    | ۱       | ندارد                        |                   |         |                                |
| ۱/۷۵ (۰/۱۵ و ۳/۸)  | ۱       | دارد                         |                   |         |                                |

## REFERENCES

1. Ghavanini AA, Sabri MR. Hepatitis B surface antigen and anti-hepatitis C antibodies among blood donors in the Islamic republic of Iran. *East Meditter Health J.* 2000; 6:1114-1116.
2. Alavian S, Gholami B, Masarrat S. Hepatitis B and C virus infection: Hepatitis C risk factors in Iranian volunteer blood donors: A case control study. *J Gastroenterol Hepatol.* 2002; 17: 1092-1097.
3. 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: 246-252.
۴. هپاتیت C در دریافت کنندگان فراورده های خونی. اسماعیلی دوکی محمدرضا، مصطفی زاده امراله، شربتداران مجید، حاجی احمدی محمود، علیجانپور مرتضی. *مجله بیماریهای کودکان*، ۱۳۸۳: سال ۱۴، شماره ۱: ۱۹-۱۵.
5. Ansar MM, Kooloobandi A. Prevalence of hepatitis C virus infection in thalassemia and haemodialysis patients in north Iran-Rasht. *J Viral Hepat.* 2002; 9: 390-392.
6. Ramia S, Koussa S, Taher A, Haraki S, Klayme S, Sarkis D. Hepatitis C virus genotypes and hepatitis G virus infection in Lebanese thalasseemics. *Ann Tropic Med Parasitol.* 2002; 96: 197-202.

7. Alberti A, Chemello L, Benvegno L. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol.* 1999; 31(suppl 1): 17-24.
8. Franchini M, Rossetti, G, Tagliaferri A, Capra F, Maria ED, Pattacini C, et al. The natural history of chronic hepatitis C in a cohort of HIV negative Italian patients with bleeding disorders. *Blood.* 2001; 98: 1836-1841.
9. Morfini M, Mannucci PM, Ciavarella N. Prevalence of infection with the hepatitis C virus among Italian hemophiliacs before and after the introduction of virally inactivated clotting factor concentrates: a retrospective evaluation. *Vox Sang.* 1994; 67: 178-182.
10. Brettler DB, Alter HJ, Dienstag JL, Forsberg AD, Levine PH. Prevalence of hepatitis C virus antibody in a cohort of hemophilia patients. *Blood.* 1990; 76: 254-256.
11. Allain JP, Dailey SH, Laurian Y, Vallari DS, Rafowicz A, Desai SM, et al. Evidence for persistent hepatitis C virus (HCV) infection in hemophiliacs. *J Clin Invest.* 1991; 88: 1672-1679.
12. Wonke B, Hoffbrand AV, Brown D, Dusheiko G. Antibody to hepatitis C virus in multiply transfused patients with thalassaemia major. *J Clin Pathol.* 1990; 43: 638-640.
13. Resti M, Azzari C, Rossi M, Vullo C, Zammarchi E, Vierucki A. Hepatitis C virus antibodies in a long-term follow up of beta-thalassaemic children with acute and chronic non A, non b hepatitis. *Eur J Pediat.* 1992; 151: 573-576.
14. Angelluci E. Antibodies to hepatitis C virus in thalassemia. *Haematologica.* 1994; 79: 353-356.
15. Simone I, McDonald S, McDonald G. Hepatitis C viruses and hematopoietic cell transplantation: a guide to patient and donor management. *Blood.* 1999; 93: 1127-1136.
۱۶. مروری بر هپاتیت C و نحوه برخورد با آن. علویان سید مؤید، سالی شهناز. مجله علمی نظام پزشکی جمهوری اسلامی ایران، ۱۳۷۹: سال ۱۸: ۵۰-۶۲.
17. Kim WR. The burden of hepatitis C in United states. *Hepatology.* 2002; 36: 830-834.
18. Darby SC, Ewart DW, Giangeande PL. Mortality from liver cancer and liver disease I haemophilic men and boys in UK given blood products contaminated with hepatitis C. UK haemophilia center directors' organization. *Lancet.* 1997; 350: 1425-1431.
19. Fried MW. Management of hepatitis C in in the hemophilia patients. *Am J Med.* 1999; 107: 855-895.
20. Sambrook J, Russell DW, editors. *Molecular cloning: a laboratory manual.* Third edition, cold spring harbor laboratory press. New york: 2001.
21. Stuyver L, wyseur A, Arnhem W, Hernandez F, Maertens G. Second-generation line probe assay for hepatitis C virus genotyping. *J Clin Microbiol.* 1996; 2259-2266.
22. Christofidou M, Lambropoulo-Karatza C, Dimitracopoulos G, Spiliopoulo I. Distribution of hepatitis C virus genotypes in viremic patients with beta-thalassemia. *Haematologia.* 2000; 14: 728-730.
23. Adamowicz-Salach A, Pawelec K, Loch T, Zdzieblowska-Pawinska A, Brojer E, Walewska-Zieleckas B, et al. Incidencia and treatment of hepatitis C virus infection in children with haemophilia in Poland. *Haemophilia.* 1999; 5: 436-440.

24. Posthouwer D, Wolters VM, Fischer K, Houwen RHJ, Van Den Berg HM, Mauser-Bunschoten EP. Hepatitis C infection in children with haemophilia: a pilot study. *Haemophilia*. 2004; 10: 722-726.
25. Doorn, L. J. V., Kleter, B., Pike, I. and Quint, W. 1996. Analysis of hepatitis C virus isolated by serotyping and genotyping. *J. Clin. Microbiol.* 34: 1784-1787.
26. Farma E, Boeri E, Bettini P, Repetto CM, McDermott J, Lillo FV, et al. Single- Step PCR in molecular diagnosis of hepatitis C virus infection. *J Clin Microbiol.* 1996; 34: 3171-3174.
27. Manns MP. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment chronic hepatitis C; a randomized trial. *Lancet* 2001; 358: 958-965.
28. Simmonds P, Holmes EC, Cha TA. Classification of hepatitis C virus in six major genotypes and a series of subtypes by Phylogenetic analysis of the NS5 region. *J Gen Virol.* 1993; 74: 2391-2399.
29. Karimi M, and Ghavanini AA. Seroprevalence of hepatitis B, hepatitis C and human immunodeficiency virus antibodies among multitransfused thalassaemic children in Shiraz, Iran. *J of Paediatrics and Child Health.* 2001; 37(6): 564-566.

۳۰. بررسی شیوع هیپاتیت B و C در بیماران تالاسمی ماژور در استان سمنان. حسینی میرمحمدعلی، منتظری محمدرضا، حجاری زاده بهزاد، علویان سیدمویذ. نشریه خون، مرداد ماه ۱۳۸۲، ۲۲۷-۲۱۹.