

بررسی عفونت پاروویروس B19 در بیماران مبتلا به تالاسمی مازور استان کردستان

جهانبخش خورنگ: کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج، ایران.
 jahanbakhshkhorang@yahoo.com
 صبوبیه امینی: استادیار و متخصص زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج، ایران.
 amini.biology@gmail.com
 وریا باباچیان: کارشناس ارشد میکروبیولوژی، پایگاه انتقال خون کردستان، سنندج، ایران.
 woria_1359@yahoo.com
 * شیرین فردوسی: استادیار و متخصص هماتولوژی و بانک خون، مرکز تحقیقات انتقال خون، مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، تهران، ایران (*نویسنده مسئول).
 ferdowsishirin@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۶/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: بیماری تالاسمی یک کم خونی ارثی است که به علت اختلال در ساخت زنجیره‌های هموگلوبین ایجاد می‌شود. درمان این بیماران از طریق تزریق خون است که باعث بهبود علامه بالینی می‌شود. با این حال تزریق خون در این بیماران دارای عوارضی از جمله انتقال عفونت‌ها از راه خون نظیر عفونت با پاروویروس B19 است. لذا، در این مطالعه عفونت پاروویروس B19 در بیماران تالاسمی مازور مراجعه کننده به بیمارستان‌های استان کردستان بررسی شد.

روش کار: در این مطالعه توصیفی ۱۶ بیمار تالاسمی مازور مراجعه کننده به بیمارستان‌های استان کردستان در سال ۱۳۹۵ بررسی شدند. برای هر یک از بیماران یک پرسش نامه که شامل اطلاعات دموگرافیک از جمله سن، جنس، فواصل زمانی تزریق خون و مدت زمان دریافت خون بود تکمیل شد. در این پژوهش از کیت الایزای شرکت Euroimmun آنتی بادی‌های پاروویروس B19 استفاده شد. پس از انجام آزمایش‌ها، جواب آن‌ها در فرم اطلاعاتی هر بیمار ثبت شد و اطلاعات به دست آمده با استفاده از آزمون آماری پیرسون تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که ۱۹ نفر (۱۷٪/۹) دارای آنتی بادی IgG و ۴ نفر (۴٪/۳٪) دارای آنتی بادی IgM بودند. رابطه معنی داری بین تفاوت تیتر آنتی بادی IgG و IgM بر حسب فواصل تزریق خون وجود نداشت ($p=0.254$). تفاوت تیتر آنتی بادی IgG و IgM در دو جنس زن و مرد نیز معنی دار نبود ($p=0.961$, $p=0.91$).

نتیجه‌گیری: با توجه به مشیت بودن ۷/۳٪ از بیماران برای آنتی بادی IgM، غربالگری خون‌های اهدایی جهت تزریق به گروههای در معرض خطر از جهت احتمال آسودگی با پاروویروس B19 در استان کردستان ضروری به نظر می‌رسد.

کلیدواژه‌ها: پاروویروس B19، تالاسمی مازور، آنتی بادی IgG و IgM

مقدمه

تالاسمی مازور یک بیماری همولیتیک ارثی و فرم شدید بتا تالاسمی است. در این بیماری به دنبال کاهش ساخت زنجیره بتای هموگلوبین کم خونی شدید ایجاد می‌شود. از این‌رو این بیماران برای تداوم زندگی نیاز به دریافت مکرر خون دارند (۱). با این حال تزریق خون در این بیماران دارای عوارضی است که یکی از مهم‌ترین آن‌ها عفونت‌های منتقله از راه خون می‌باشد. پاروویروس B19 یک ویروس حاوی DNA تکرشتهای و بدون پوشش لیپیدی است که مهم‌ترین روش انتقال آن بعد از راه تنفسی تزریق خون است (۲). این ویروس به دلیل فقدان پوشش لیپیدی به

حالهای و دترنژتها مقاوم است و از طریق روش‌های معمول در انتقال خون از بین نمی‌رود (۳). عفونت با پاروویروس B19 می‌تواند منجر به افت شدید هموگلوبین و آنمی شده که می‌تواند تهدیدکننده حیات باشد (۴). بیماران مبتلا به تالاسمی مازور در صورت عفونت با پاروویروس B19 در معرض خطرات بیشتری نظیر حملات آپلاستیک، آنمی شدید و رتیکولوسیتوپنی قرار دارند (۵).

مطالعات اپیدمیولوژی نشان داده که عفونت پاروویروس B19 در کشورها و مناطق مختلف دارای شیوع متفاوتی است (۶). بالاترین شیوع سرمی آنتی بادی IgG بر ضد پاروویروس B19 در

نسبت ۱:۱۰۱ با محلول sample buffer رقیق شد. سپس نمونه‌های رقیق شده به میزان ۱۰۰ μ lit به همراه کنترل‌های منفی و مثبت به چاهک‌های ویژه الیزا اضافه و به مدت ۶۰ دقیقه در انکوباتور 37°C قرار گرفت. پس از سه بار شستشو با بافر شستشو (Wash buffer)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آنزیم کونژوگه (آنٹی هیومن IgM یا IgG نشاندار شده با پر اکسیداز) به چاهک‌ها اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه پلیت‌ها در دمای اتاق قرار گرفت. پس از سه بار شستشو، ۱۰۰ میکرولیتر محلول سوبسترا/کروموزن به چاهک‌ها اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و دور از نور مستقیم آفتاب قرار گرفت. در پایان ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده اضافه و در طول موج ۴۵۰ نانومتر به وسیله دستگاه الیزا ریدر قرائت نتایج انجام گرفت. در محاسبه نیمه کمی آنتی‌بادی پاروویروس B19 IgM جذب نوری رنگ حاصل را اندازه‌گیری کرده و از این نسبت استفاده شد:

$$\text{Ratio} = \text{OD Patient} / \text{OD Cal}$$

تفسیر نتایج به این صورت بود: کمتر از $0/8$ منفی، مابین $0/8$ تا $1/1$ مشکوک و بیشتر از 1.1 مثبت. در محاسبه کمی آنتی‌بادی پاروویروس B19 IgG نیز پس از رسم منحنی استانداردها نتایج به این صورت تفسیر شد: کمتر از 4 منفی، مابین 4 تا $5/5$ مشکوک و بیشتر از $5/5$ مثبت. پس از انجام آزمایش‌ها جواب آن‌ها در فرم اطلاعاتی هر بیمار ثبت شد و اطلاعات به دست آمده با استفاده از آزمون آماری پیرسون و نرم‌افزار SPSS ورژن ۱۹ تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها

جامعه مورد مطالعه شامل ۱۰۶ بیمار شناخته شده مبتلا به تالاسمی مژوز در استان کردستان بود. از این تعداد ۵۴ نفر مرد ($50/9\%$) و ۵۲ نفر زن ($49/1\%$) بودند. در این بررسی ۳۴ نفر از بیماران مربوط به شهرستان سنندج، 8 نفر مربوط به شهرستان قروه، 6 نفر مربوط به شهرستان بیجار، 14 نفر مربوط به شهرستان بانه، 23 نفر مربوط به شهرستان سقز و 21 نفر مربوط به شهرستان

بیماران مبتلا به اختلالات هماتولوژیک از جمله تالاسمی در تایوان و سوئد گزارش شده است (۷ و ۸). افزایش میزان مثبت بودن سرم با تزریق خون نیز در تایوان و هنگ‌کنگ گزارش شده است (۹). به طوری که مطالعات نشان داده میزان شیوع در اهداکنندگان سالم خون می‌تواند بین 1 در 20000 تا 1 در 500000 اهداکننده باشد (۱۰ و ۱۱). بر اساس مطالعات انجام گرفته در استان‌های اصفهان و تهران، ژنوم (DNA) پاروویروس B19 در بیماران تالاسمی به ترتیب شیوع 20% و 4% را نشان داده است (۱۲ و ۱۳). بنابراین از آنجاکه انتقال خون عامل مهمی در انتشار این عفونت است و بیماران تالاسمی به طور مرتباً خون دریافت می‌کنند، هدف از مطالعه حاضر بررسی میزان عفونت پاروویروس B19 در بیماران مبتلا به تالاسمی مژوز استان کردستان می‌باشد. با توجه به اینکه این تحقیق اولین بررسی آلدگی با پاروویروس B19 در بیماران تالاسمی مژوز در استان کردستان می‌باشد اطلاعات به دست آمده وضعیت آلدگی در بیماران مصرف کننده مزمن خون در این منطقه را نشان می‌دهد که با توجه به میزان شیوع می‌توان اهمیت غربالگری در اهداکنندگان خون را تعیین نمود.

روش کار

در این مطالعه توصیفی که جمعیت مورد مطالعه شامل بیماران مبتلا به تالاسمی مژوز مراجعه کننده به بیمارستان‌های استان کردستان بود پس از کسب رضایت، نمونه‌گیری انجام گرفت. برای هر یک از بیماران یک پرسشنامه شامل اطلاعات دموگرافیک از جمله سن، جنس، فوائل زمانی تزریق خون و مدت زمان دریافت خون تکمیل شد. از بیماران، نمونه خون کامل گرفته شد (5 تا 10 سی سی). سپس خون گرفته شده در دور 3000 rpm به مدت 15 دقیقه سانتریفوژ و سرم آن جداسازی و در فریزر منفی 20 درجه سانتی‌گراد تا هنگام انجام آزمایش‌ها نگهداری شد. کیت‌های مورد استفاده برای اندازه‌گیری آنتی‌بادی‌های IgG و IgM پاروویروس مربوط به شرکت Euro immune آلمان بود. نمونه‌ها به

جدول ۱- توزیع فراوانی بر حسب سن شروع تزریق خون

درصد	فراوانی	سن شروع تزریق خون
۲۴/۶	۲۶	کمتر از ۱۲ ماهگی
۳۷/۷	۴۰	۱۲ تا ۲۴ ماهگی
۳۷/۷	۴۰	بیشتر از ۲۴ ماهگی
۱۰۰	۱۰۶	مجموع

جدول ۲- توزیع فراوانی مدت زمان دریافت خون بر حسب سال

درصد	فراوانی	مدت زمان دریافت خون
۲۳/۶	۲۵	کمتر از ۱۰ سال
۴۲/۵	۴۵	بین ۱۰ تا ۲۰ سال
۲۶۶,۴/۲۴	۲۸	بین ۲۰ تا ۳۰ سال
۷/۵	۸	بیشتر از ۳۰ سال
۱۰۰	۱۰۶	مجموع

جدول ۳- توزیع فراوانی فواصل تزریق خون بر حسب روز

درصد	فراوانی	فواصل تزریق خون
۴۶/۲	۴۹	کمتر از ۲۰ روز
۵۰	۵۳	بین ۲۰ تا ۳۰ روز
۳/۸	۴	بیشتر از ۳۰ روز
۱۰۰	۱۰۶	مجموع

استفاده شد که با استفاده از این آزمون رابطه معنی داری وجود نداشت نداد ($p=0.056$) ($p=0.251$). بالاترین تیتر آنتی بادی در بیماران تالاسمی مژور شهرستان بانه و کمترین در شهرستان قروه مشاهده شد.

بحث و نتیجه گیری
افراد تالاسمی مژور نیاز به دریافت واحدهای خونی مکرر دارند و هر چه تعداد واحدهای خون بیشتری به بیمار تزریق شود احتمال آلودگی به پاروویروس B₁₉ بیشتر است. در واقع خطر عفونت بسته به تعداد واحدهای خون دریافتی و حجم خون تزریق شده افزایش می یابد. در مطالعه حاضر، ۱۹ نفر از اهداکنندگان (۱۷/۹٪) دارای آنتی بادی IgG و ۴ نفر (۳/٪) دارای آنتی بادی IgM بودند.

مریوان بودند. توزیع فراوانی بیماران بر حسب سن شروع تزریق خون در جدول ۱، بر حسب مدت زمان دریافت خون در جدول ۲ و بر حسب فواصل تزریق خون در جدول ۳ ارایه شده است. نتایج نشان داد که ۱۹ نفر (۱۷/۹٪) دارای آنتی بادی IgG و ۴ نفر (۳/٪) دارای آنتی بادی IgM هستند. افراد IgM مثبت شامل سه مرد (با سن ۱۸، ۲۸ و ۲۱ سال) و یک زن (با سن ۱۶ سال) بودند. سن شروع تزریق در هر چهار مورد از یک سالگی و فواصل تزریق خون بین ۲۰ تا ۳۰ روز بود. میانگین تیتر آنتی بادی IgG و IgM در فواصل زمانی مختلف از تزریق خون اختلاف آماری معناداری نشان نداد ($p=0.377$) ($p=0.254$).

جدول ۴- مقایسه میانگین تیتر آنتی بادی IgG و IgM بر حسب فواصل تزریق خون

P	انحراف معیار	IgM	IgG	P	انحراف معیار	میانگین تیتر آنتی بادی	انحراف معیار	میانگین تیتر آنتی بادی	انحراف معیار	فواصل تزریق خون	
۰/۰۴	IgM	۰/۰۶۱	IgG	۰/۳۷۷	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۵	۰/۰۹۴	۰/۰۶۵	۰/۰۳۴	کمتر از ۲۰ روز
۰/۲۵۴	IgM	۰/۰۳	IgG	۰/۳۷۷	۰/۰۳۵	۰/۰۳۵	۰/۰۵	۰/۰۹۴	۰/۰۶۵	۰/۰۳۴	بین ۲۰ تا ۳۰ روز
					۰/۰۸	۰/۱۶	۰/۰۸	۰/۰۹۱	۰/۰۹	۰/۰۴	بیشتر از ۳۰ روز
					۰/۳۰۸	۰/۲۱۶	۰/۱۵	۰/۴۲۹	۰/۱۸	۰/۰۴	میانگین و انحراف معیار کل

اما در مطالعه حاضر ارتباط بین تیتر آنتی‌بادی با فواصل تزریق خون معنی‌دار نبود. در مطالعه حاضر با توجه به این که ۳/۷٪ از نمونه‌ها دارای آنتی‌بادی IgM علیه پاروویروس B₁₉ بودند نشان‌دهنده این است که بیمار عفونت‌های اخیر یا فعال را تجربه کرده است؛ بنابراین غربالگری خون‌های اهدایی جهت تزریق به گروه‌های در معرض خطر نظیر بیماران تالاسمی از جهت احتمال آلودگی با پاروویروس B₁₉ در استان کردستان ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

1. Fucharoen S, Winichagool P. Prevention and control of thalassemia in Asia. *Asian Biomed*; 2010.1(1):1-6.
2. Saldanha J, Minor P. Detection of human parvovirus B19 DNA in plasma pools and blood products derived from these pools: implications for efficiency and consistency of removal of B19 DNA during manufacture. *Br J Haematol*; 1996.93(3):714-9.
3. Salimans M, Holsappel S, Van de Rijke F, Jiwa N, Raap A, Weiland H. Rapid detection of human parvovirus B19 DNA by dot-hybridization and the polymerase chain reaction. *J Virol Methods*; 1989.23(1):19-28.
4. Heegaard ED, Brown KE. Human parvovirus B19.. *Clin Microbiol Rev*; 2002.15(3):485-505.
5. Brown KE. The expanding range of parvoviruses which infect humans. *Rev Med Virol*; 2010.20(4):231-44.
6. Cohen B, Buckley MM. The prevalence of antibody to human parvovirus B 19 in England and Wales. *J. Med. Microbiol*; 1988.25(2):151-3.
7. Lundqvist A, Tolfsenstam T, Brytting M, Stolt CM, Hedman K, Brolden K. Prevalence of parvovirus B19 DNA in bone marrow of patients with haematological disorders. *Scand J Infect Dis*; 1999.31(2):119-22.
8. Lee YM, Tsai WH, You JY, Tiau Kuo B, Liao PT, Ho CK, et al. Parvovirus B19 infection in Taiwanese patients with hematological disorders. *J Med Virol*; 2003.71(4):605-9.
9. Lim W, Wong K, Lau C. Parvovirus B19 infection in Hong Kong. *J Infect*; 1997.35(3):247-9.
10. Kishore J, Srivastava M, Choudhury N. Serological study on parvovirus B19 infection in multitransfused thalassemia major patients and its transmission through donor units. *Asian J Transfus Sci*; 2011.5(2):140.
11. Ragni M, Sherman K, Jordan J. Viral pathogens. *Haemophilia*; 2010.16(s5):40-6.

نتایج به دست آمده نشان داد که میزان مثبت بودن سرمی آنتی‌بادی IgG ضد پاروویروس B19 در بین بیماران تالاسمی مژوز استان کردستان در مقایسه با برخی مطالعات انجام گرفته از میزان پایین‌تری برخوردار است. در مطالعه Siritantikorn (۱۴) در سال ۲۰۰۷ در تایلند، میزان شیوع آنتی‌بادی IgG پاروویروس B19 در بیماران تالاسمی، ۳۸٪ گزارش شد. در مطالعه Regaya (۱۵) در سال ۲۰۰۷ در تونس شیوع ۳۹٪ در مطالعه Kishore (۱۰) در سال ۲۰۱۱ در هند شیوع ۸۱٪، در مطالعه Tarish (۱۶) در سال ۲۰۱۴ در عراق شیوع ۳۰٪ و در مطالعه Ghwass (۱۷) در سال ۲۰۱۶ در مصر شیوع ۱۸٪ گزارش شد. در مطالعه Slavov (۱۸) در سال ۲۰۱۲ در بربازیل، از ۱۸۳ فرد (۱۴۴ آنما) داسی شکل و ۳۹ تالاسمی مژوز و ۱۰۰ اهداکننده سالم، آنتی‌بادی anti-B19V IgG در ۶۵٪ از بیماران مبتلا به آنما داسی شکل (n=۱۴۳) از بیماران تالاسمی (n=۱۴۳) ۳۵٪، در ۹۵٪ (۹۵/۱۴۴) اهداکنندگان سالم شناسایی شد.

در پژوهش حاضر ۴ نفر (۳/۷٪) دارای آنتی‌بادی IgM بودند که نشان‌دهنده وجود عفونت فعال در بیماران تالاسمی مژوز استان کردستان است. در مطالعه Siritantikorn (۱۴) در سال ۲۰۰۷ در تایلند، میزان شیوع آنتی‌بادی IgM پاروویروس B19 در بیماران تالاسمی، ۴٪ در مطالعه Kishore (۱۰) در سال ۲۰۱۱ در هند شیوع ۱۳٪ در عراق شیوع ۱۳٪ و در مطالعه Ghwass (۱۷) در سال ۲۰۱۶ در مصر شیوع ۱۴٪ گزارش شد. در سال ۲۰۱۶ در مطالعه Jain (۱۹) نشان داد که شیوع آنتی‌بادی anti-B19V IgG با افزایش سن در بیماران مبتلا به اختلالات خونی افزایش می‌یابد. ارتباط بین میزان شیوع آنتی‌بادی با سن در مطالعه Slavov (۱۸) نیز گزارش شد؛ اما در مطالعه Kishore این ارتباط معنی‌دار نبود که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. در مطالعه Kishore شیوع آنتی‌بادی‌های پاروویروس B19 با تعداد واحدهای خون تزریقی افزایش داشت (۱۰٪).

12. Nikoozad R, Mahzounieh MR, Ghorani MR. Detection of parvovirus B19 infection in thalassemic patients in Isfahan province, Iran. Jundishapur J Microbiol; 2015.8(11): e26590.
13. Arabzadeh SAM, Alizadeh F, Tavakoli A, Mollaei H, Bokharaei-Salim F, Karimi G, et al. Human parvovirus B19 in patients with beta thalassemia major from Tehran, Iran. Blood Res; 2017.52(1):50-4.
14. Siritantikorn S, Kaewrawang S, Siritanaratkul N, Theamboonlers A, Poovorawan Y, Kantakamalakul W, et al. The prevalence and persistence of human parvovirus B19 infection in thalassemic patients. Asian Pac J Allergy Immunol; 2007. 25(2-3):169.
15. Regaya F, Oussaief L, Bejaoui M, Karoui M, Zili M, Khelifa R. Parvovirus B19 infection in Tunisian patients with sickle-cell anemia and acute erythroblastopenia. BMC Infect Dis; 2007.7(1):123.
16. Tarish AH. Seroprevalence of Human Parvovirus B19 Infection among Thalassemic Children in Babylon Center of Hereditary Blood Disorders. Med J Babylon; 2013.10(2):491-496.
17. Al Ghwass ME, El Shafei SM, Mohamed WS, Mohamed BS. Seroprevalence of parvovirus B19 infection in patients with beta thalassemia major in Fayoum University Hospital. Gazette; 2016.64(3):126-30.
18. Slavov SN, Haddad SK, Silva-Pinto AC, Amarilla AA, Alfonso HL, Aquino VH, et al. Molecular and phylogenetic analyses of human Parvovirus B19 isolated from Brazilian patients with sickle cell disease and -thalassemia major and healthy blood donors. J Med Virol; 2012.84(10):1652-65.
19. Jain P, Jain A, Prakash S, Khan DN, Singh DD, Kumar A, et al. Prevalence and genotypic characterization of human parvovirus B19 in children with hemato-oncological disorders in North India. J Med Virol; 2015.87(2):303-9.

Investigation of Parvovirus B19 infection in patients with thalassemia major in Kurdistan province

Jahanbakhsh Khorang, Msc of Microbiology, Department of Biology, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran. jahanbakhshkhorang@yahoo.com

Sabrieh Amini, PhD, Assistant Professor of Biology, Department of Biology, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran. amini.biology@gmail.com

Woria Babahajian, Msc of Microbiology, Kurdistan Blood Transfusion Organization, Sanandaj, Iran. woria_1359@yahoo.com

***Shirin Ferdowsi**, PhD, Assistant Professor of Hematology, Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran; (*Corresponding author). ferdowsishirin@gmail.com

Abstract

Background: Thalassemia is a hereditary anemia caused by abnormal hemoglobin chain formation. Treatment is through blood transfusion, which improves the symptoms. However, blood transfusion has complications e.g transmission of infection such as Parvovirus B19. The aim of this study was to investigate the incidence of Parvovirus B19 infection in thalassemia major patients in Kurdistan province.

Methods: In this descriptive study 106 thalassemia patients referred to hospitals in Kurdistan province were randomly selected in 2016. For each patient a questionnaire containing demographic information including age, sex, blood transfusion intervals and duration of blood transfusion were collected. For IgM and IgG antibodies, Euroimmun ELISA kit was used. After the tests, obtained data were analyzed using Pearson statistical test.

Results: Prevalence of IgM and IgG antibodies in patients with thalassemia were 3.7% and 17.9%, respectively. The correlation between IgG and IgM antibody titer and blood transfusion interval was not significant ($p=0.377$, $p=0.254$). The correlation between IgG and IgM antibody titer and gender was not significant ($p= 0.61$ and $p= 0.961$, respectively).

Conclusion: Regarding the prevalence of 3.7% for IgM antibody, screening of donated blood for Parvovirus B19 is necessary in patients with hematological disorders in Kurdistan province.

Keywords: Thalassemia, Parvovirus B19, IgG and IgM antibody