

بررسی فراوانی حضور پادتن ویروس هپاتیت نوع C در سرم اهداکنندگان خون شهرستان شهرکرد به روش ELISA

چکیده

زمینه و هدف: علی‌رغم امکان تزریق خون به عنوان تنها راه نجات برخی از بیماران، بیماریهای منتقله از راه خون از جمله HCV یکی از معضلات انتقال خون می‌باشند که منجر به عوارض برای بیمار و صرف بودجه‌های سنگین می‌گردند. هپاتیت C یک معضل بهداشتی در دنیا بوده و در حال حاضر ۲۰۰ میلیون نفر به آن مبتلا می‌باشند. کشور ما از نظر شیوع هپاتیت C جزو مناطق با شیوع کم می‌باشد ولی میزان بروز موارد جدید این عفونت رو به افزایش است. تعداد زیادی از مبتلایان هپاتیت C دچار هپاتیت مزمن می‌شوند که به نظر می‌رسد بسیاری از این افراد در نهایت به سیروز و یا کارسینوم هپاتوسلولار مبتلا می‌شوند. روش بررسی: با توجه به شیوع ۱-۲ درصدی عفونت هپاتیت C در اهداکنندگان خون در این تحقیق نیز به منظور تعیین میزان شیوع سرولوژیک HCV Ab در اهداکنندگان خون شهرستان شهرکرد و تعیین میزان نقش هر یک از فاکتورهای خطر ساز نمونه‌های فوق با آزمایش ELISA مورد بررسی قرار گرفتند یافته‌ها: پس از انجام آزمون الیزا با استفاده از کیت HCV Ab بر روی ۱۱۴۷۲ نمونه سرم اهداکنندگان خون شهرستان شهرکرد در ۶۹ مورد (۰/۶٪) جواب مثبت گزارش شد. آلودگی به HCV در مردان و زنان و افراد متأهل، افراد مجرد، افرادی که سابقه خال کوبی، حجامت، تماس جنسی مشکوک و سابقه مسافرت به خارج از کشور داشتند به ترتیب: ۰/۶۱٪، ۰/۰۵٪، ۰/۴۱٪، ۰/۲۱٪، ۰/۱۵٪، ۰/۸٪، ۰/۵٪ و ۱۴٪ برآورد گردید. نتیجه‌گیری: ارتباط آماری معنی‌دار بین آلودگی به HCV با وضعیت تأهل، سابقه خال کوبی و سابقه داشتن تماس جنسی مشکوک مشاهده گردید. همچنین بین آلودگی به HCV و جنسیت، سابقه داشتن حجامت، سابقه بیماری کبدی و سابقه داشتن مسافرت به خارج کشور مشاهده نگردید.

کلمات کلیدی: هپاتیت C، الیزا، اهداکنندگان، شهرکرد

الهه تاج بخش^۱
رامین یعقوبی^{۲*}
علیرضا واحدی^۳

۱- گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد
۲- مرکز تحقیقات پیوند اعضا، بیمارستان نمازی، دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه شیراز
۳- سازمان انتقال خون شهرستان شهرکرد

* نویسنده مسئول، نشانی: شیراز-بیمارستان نمازی- مرکز تحقیقات پیوند اعضا- دانشگاه علوم پزشکی شیراز
تلفن: ۰۷۱۱-۶۲۷۶۲۱۱-۶۲۷۶۲۱۱؛ فاکس: ۰۷۱۱-۶۲۷۶۲۱۱
email: rayaviro@yahoo.com

مقدمه

مطالعات بالینی و اپیدمیولوژیک و نیز مطالعاتی که بر روی شامپانزه‌ها صورت گرفته حاکی از آن است که حداقل دو عامل برای Non A Non B Hepatitis (NANB) وجود دارد که یکی از این عوامل ویروس هپاتیت نوع C می‌باشد.^{۱،۲} حداقل ۵۰٪ بیماران که قبلاً به عنوان هپاتیت NANB به دنبال تزریق خون تشخیص داده شده بودند، دارای تست مثبت از لحاظ آنتی‌بادی ضد HCV بوده‌اند. با اضافه شدن آزمایش آنتی‌بادی ضد HCV برای بررسی و بیماریابی افراد دهنده خون باید میزان خطر هپاتیت مربوط به تزریق خون به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یابد. این آزمایش را می‌توان با روش‌های Radio and Enzyme Linked Immuno Surbent Assay (ELISA) و Immuno Assay (RIA) انجام داد.^۳ بیش از نیمی از بیماران مبتلا به

عفونت HCV دچار هپاتیت مزمن می‌شوند و به نظر می‌رسد که بسیاری از این افراد به سیروز نیز مبتلا شده و یا این که دچار کارسینوم هپاتوسلولار می‌شوند.^{۴،۵} علت هپاتیت NABA بیش از یک دهه ناشناخته بود تا این که در سال ۱۹۸۳ با استخراج کپی CDNA، ژنوم ویروس موجود در پلاسما شامپانزه آلوده به ویروس هپاتیت نوع C شناخته شد. این ویروس علاوه بر تزریق خون می‌تواند از راه‌های دیگر نظیر داروهای وریدی توسط خود شخص انتقال یابد. مانند تماس شغلی با خون یا فرآورده‌های خونی یا دریافت فاکتورهای انعقادی و یا از طریق واحدهای همودیالیز تماس‌های غیرطبیعی مثل تماس جنسی، ارتباطات هموسکسوال و هتروسکسوال و انتقال از راه مادر به جنین نیز می‌تواند منجر به انتقال ویروس شوند.^{۶،۷} با انجام آزمایشات اختصاصی غربالگری خون میزان ابتلا به HCV از طریق

بود که حاوی اطلاعاتی در مورد سن، جنس، شغل، وضعیت تأهل، سابقه خال کوبی، حجامت، تماس جنسی مشکوک، بیماری‌های کبدی، قلبی و عصبی، دریافت خون یا فاکتورهای خونی و سابقه اعتیاد تزریقی می‌باشد. تجزیه و تحلیل اطلاعات نیز با استفاده از نرم‌افزار آماری InStat و آزمون‌های χ^2 و آزمون فیشر صورت گرفت. از کیت الیزا تهیه شده توسط مؤسسه Biotech ایرلند (نسل سوم)، جهت تشخیص پادتن‌های ضد ویروس HCV در سرم اهداکنندگان خون استفاده گردید. کیت‌های نسل سوم الیزا پروتئین‌های ناحیه غیر قابل ترجمه Non Structural Sequence (NSS) را شناسایی می‌کنند که به جای پروتئین نوترکیب به کار رفته شده در نسل دوم، از پپتید صناعی استفاده می‌کنند که خیلی سریع‌تر Anti-HCV را شناسایی می‌کنند حساسیت و اختصاصی بودن کیت‌های الیزا نسل سوم نسبت به نسل اول و دوم بسیار بیشتر است و قادرند که Anti-HCV را خیلی زودتر تشخیص دهند. گوده‌های میکروپلیت الیزا با پادگن HCV پوشانده شده‌اند. گوده A1 به عنوان بلانک، گوده B1 به عنوان کنترل مثبت و گوده C1 کنترل منفی در نظر گرفته می‌شوند. نمونه‌های سرم رقیق شده مورد آزمایش با پادگن موجود در همه گوده‌ها به استثنای C1، A1، B1 مجاور می‌گردند که در صورت وجود پادتن‌های ضد HCV در نمونه‌های سرم این پادگن‌ها متصل شده و در اثر شستشو کنده نمی‌شوند. در مرحله بعد آنتی‌گلوبولین کونژوگه رقیق شده به همه گوده‌ها به استثنای A1 اضافه می‌گردد که در صورت وجود پادتن‌های ضد HCV در نمونه سرم به پادتن‌ها متصل شده و در اثر شستشوی مجدد کنده نمی‌شوند. در مرحله بعد کروموزن سوبسترا به همه گوده‌ها از جمله A1 اضافه می‌گردد. تغییر رنگ حاصله به علت تغییر تأثیر کونژوگه آنزیم بر روی سوبسترا می‌باشد که پس از اضافه کردن اسید کلریدریک به عنوان ماده متوقف‌کننده واکنش رنگ‌های تولید شده با چشم یا قرائت‌کننده الیزا در طول موج ۴۵۰ nm و ۶۲۰ nm قابل قرائت می‌باشند. برای قرائت نتایج از دستگاه قرائت‌کننده الیزا مدل stat fax ۲۱۰۰ - ساخت آمریکا استفاده گردید. این دستگاه پس از قرائت نمونه‌ها، نتایج را چاپ کرده و ارائه می‌دهد.

یافته‌ها

متعاقب انجام آزمون الیزا با استفاده از کیت تجاری HCV Ab بر روی ۱۱۴۷۲ نمونه سرم اخذ شده از اهداکنندگان خون شهرستان شهرکرد

ترانسفوزیون کاهش یافته در صورتی که انجام تست غیراختصاصی در دهندگان خون در گذشته باعث می‌گردید دهندگان خون از عوامل خطر ساز ایجاد عفونت محسوب شوند. از سال ۱۹۹۱ تاکنون با انجام تست‌های اختصاصی در دهندگان خون خطر ابتلا به HCV به یک مورد در هر ۱۰۳/۰۰۰ تزریق رسیده است. بیشترین میزان ابتلا به HCV در معتادان تزریقی می‌باشد. در مطالعه انجام شده توسط CDC در فاصله زمانی ۱۹۹۱ تا ۱۹۹۶، ۵۹٪ افرادی که به HCV مبتلا شدند سابقه تزریق مواد مخدر تزریقی را داشته‌اند. به طور کلی هپاتیت C از حدود ۱-۲٪ خون دهندگان جدا شده است. غربالگری خون‌ها برای هپاتیت C باعث کاهش انتقال این ویروس در اسپانیا از ۹/۶٪ به ۱/۹٪ شده است. در ژاپن و آمریکا نیز ۷۳٪ کاهش انتقال مشاهده شده است. انتقال بیماری از راه سایر فرآورده‌های خونی ۱۰-۵٪ می‌باشد. در افراد هموفیلی که حجم زیادی از فاکتورهای خونی و غیر استریل دریافت می‌کردند شیوع HCV تقریباً ۱۰٪ بود. میزان انتقال HCV بعد از تماس با سوزن ۱۰-۳٪ است.^۸ بررسی سطح آمینوترانسفرازهای سرمی به تشخیص بیماری تا حدودی کمک می‌کند. تست مهم دیگر جهت شناسایی HCV، HCV-RT-PCR می‌باشد که حتی در مواردی که بیمار فاقد Anti-HCV می‌باشد به تشخیص بیماری کمک می‌کند. از آنجا که ویروس HCV قادر به رشد در کشت‌های سلولی نمی‌باشد با استفاده از تست‌های سرولوژی نظیر ELISA می‌توان وجود آنتی‌بادی اختصاصی علیه ویروس را تشخیص داد. تا کنون سه نسل از این کیت‌ها طراحی شده که نسل سوم آن‌ها از حساسیت و اختصاصی بودن بالاتری برخوردار می‌باشد. البته در صورت مثبت بودن آنتی‌بادی ضد HCV باید با استفاده از تست‌های اختصاصی نظیر Recombinant Immuno Blotting Assay (RIBA) و PCR آن را تأیید و یا رد نمود. هدف از این تحقیق بررسی فراوانی حضور پادتن ویروس هپاتیت C در سرم اهداکنندگان خون و نیز عوامل مرتبط با بیماری می‌باشد.

روش بررسی

نمونه‌های این آزمون در فاصله زمانی تیرماه ۱۳۸۳ تا اسفندماه ۱۳۸۳ از کلیه داوطلبین اهدای خون شهرستان شهرکرد تهیه گردید. نمونه‌های اخذ شده ۱۱۴۷۲ نمونه بودند. داوطلبین بین ۱۷ تا ۶۰ سال سن داشتند. هنگام اهدای خون هر فرد موظف به تکمیل پرسشنامه‌ای

HCV در افرادی که سابقه بیماری کبدی داشتند ۰/۸٪ برآورد گردید که در تجزیه و تحلیل آماری با مربع کای با $\chi^2=0/1685$ ، درجه آزادی ۱، $P=1/343$ ، $odds\ ratio=1/343$ و سطح اطمینان ۰/۹۵ ارتباط آماری معنی داری بین میزان آلودگی و سابقه بیماری کبدی مشاهده نگردید. از تعداد ۱۱۴۷۲ نمونه مورد بررسی در ۴۰ مورد (۰/۴٪) سابقه تماس جنسی مشکوک گزارش گردید که از نظر HCV-Ab در آزمون الیزا دو مورد مثبت تشخیص داده شدند که آلودگی به HCV در افرادی که سابقه تماس جنسی مشکوک داشتند ۰/۵٪ برآورد گردید که در تجزیه و تحلیل آماری با آزمون مربع کای با $\chi^2=6/656$ ، درجه آزادی ۱، $P=0/099$ ، $odds\ ratio=8/928$ و سطح اطمینان ۰/۹۵ رابطه آماری معنی دار بین میزان آلودگی و سابقه تماس جنسی مشکوک مشاهده گردید (جدول ۲). از تعداد ۱۱۴۷۲ اهدا کننده خون، ۷۰۰ نفر (۰/۶٪) سابقه مسافرت به خارج از کشور را داشتند که در تست سرمی الیزا فقط یک مورد از آنها واکنش سرمی مثبت مشاهده شد و درصد آلودگی در افرادی که سابقه مسافرت به خارج از کشور را داشتند ۰/۱۴ درصد برآورد گردید. که در تجزیه و تحلیل ماری با آزمون χ^2 با $\chi^2=1/707$ ، درجه آزادی ۱، $p=0/1914$ و $odds\ ratio=0/2353$ سطح اطمینان ۰/۹۵ ارتباط معنی داری بین میزان آلودگی و سابقه مسافرت به خارج مشاهده نگردید.

بحث

علی‌رغم امکان تزریق خون به عنوان تنها راه نجات برخی از بیماران، بیماری‌های منتقله از راه خون از جمله HCV یکی از معضلات بهداشتی در علم انتقال خون می‌باشند که موجب عوارض و صرف بودجه‌های سنگین می‌گردد. هپاتیت C یک معضل بهداشتی در جهان است و در حال حاضر ۲۰۰ میلیون نفر مبتلا به آن می‌باشند کشور ما از نظر شیوع هپاتیت C جزء مناطق با شیوع کم می‌باشد ولی میزان بروز موارد جدید در حال افزایش است. تحقیقات انجام شده در سایر کشورها شیوع بالای HCV را در اهداکنندگان خون نشان می‌دهد ولی خوشبختانه در کشور ما HCV در اهداکنندگان خون از شیوع خیلی بالایی برخوردار نمی‌باشد و این سلامت خون‌های اهدایی را نشان می‌دهد. در این مطالعه ضمن برآورد شیوع HCV در اهداکنندگان خون شهرستان شهرکرد، آنالیزهای آماری جهت یافتن ارتباط معنی دار بین فاکتورهایی نظیر سن، جنس، وضعیت تأهل،

تعداد ۶۹ نمونه در آزمون الیزا واکنش سرمی مثبت نشان دادند که میزان آلودگی ۰/۶ درصد برآورد گردید. از تعداد ۱۱۴۷۲ اهدا کننده خون ۹۶۰۲ (۸۳/۶۹٪) نفر مرد و ۱۸۷۰ (۱۶/۳۰٪) نفر زن بودند که ۱۰ نفر از زنان تست الیزا واکنش سرمی مثبت نشان دادند که درصد آلودگی ۰/۰۵ درصد برآورد گردید. در حالی که در ۵۹ نفر از مردان تست سرمی الیزا مثبت گردید که درصد آلودگی ۰/۶۱ درصد برآورد گردید که در تجزیه و تحلیل آماری با آزمون χ^2 ، $\chi^2=0/5923$ ، درجه آزادی ۱، $p=0/4415$ ، $odds\ ratio=0/7646$ و سطح اطمینان ۰/۹۵ ارتباط معنی داری بین میزان آلودگی به HCV و جنسیت مشاهده نگردید. از ۱۱۴۷۲ نمونه مورد بررسی ۸۸۴۹ مورد (۷۷/۱۳٪) متأهل و ۲۶۲۳ مورد (۲۲/۸۶٪) مجرد بودند که ۳۲ نفر از افراد مجرد و ۳۷ نفر متأهل در آزمون الیزا واکنش سرمی مثبت داشتند که در تجزیه و تحلیل آماری با آزمون χ^2 با $\chi^2=20/439$ ، درجه آزادی ۱، $p=0/0001$ ، $odds\ ratio=0/3400$ و سطح اطمینان ۰/۹۵ درصد ارتباط آماری معنی دار بین میزان آلودگی و وضعیت تاهل مشاهده گردید. از فاکتورهای خطر ساز مورد بررسی در این تحقیق سابقه خال‌کوبی بود که از تعداد ۱۱۴۷۲ نمونه مورد بررسی ۴۰۰ نمونه دارای سابقه خال‌کوبی بودند (۳/۸۴٪) که از این تعداد شش نمونه در تست الیزا واکنش سرمی مثبت نشان دادند. درصد آلودگی به HCV در افرادی که سابقه خال‌کوبی داشتند ۱/۵ درصد برآورد گردید. همچنین از ۱۱۰۷۲ نفری که سابقه خال‌کوبی نداشتند نیز در ۶۳ نفر نتیجه آزمایش الیزا مثبت گردید. که در تجزیه و تحلیل آماری با آزمون χ^2 با $\chi^2=4/148$ ، درجه آزادی ۱، $p=0/417$ ، $odds\ ratio=2/661$ و سطح اطمینان ۰/۹۵، ارتباط معنی دار بین میزان آلودگی و سابقه خال‌کوبی مشاهده گردید. از ۱۱۴۷۲ نمونه مورد بررسی ۲۰۰ مورد دارای سابقه حجامت بودند که تنها در دو مورد از آنها آلودگی به HCV گزارش گردید که درصد آلودگی در افرادی که سابقه حجامت داشتند ۱٪ برآورد گردید. در افرادی که سابقه حجامت نداشتند (۱۱۲۷۲ نفر) در ۶۷ نفر از آنها آزمایش الیزا مثبت گزارش گردید که در تجزیه و تحلیل آماری با آزمون χ^2 با $\chi^2=7/7512$ ، درجه آزادی ۱، $p=0/17840$ و سطح اطمینان ۰/۹۵ و $odds\ ratio=1/689$ ارتباط آماری معنی دار بین میزان آلودگی و سابقه حجامت مشاهده نگردید. از ۱۱۴۷۲ نمونه مورد بررسی تعداد ۲۵۰ مورد سابقه بیماری کبدی داشتند (۲/۱۷٪) که تنها دو مورد در آزمون الیزا واکنش سرمی مثبت نشان دادند. که درصد آلودگی به

A serological survey on hepatitis C virus Antibody in blood donors with an ELISA method

Tajbakhsh E¹
Yaghobi R^{2*}
Vahedi AR.³

1-Department of microbiology-
Azad Islamic University -
Sharekord-Iran

2- Shiraz Transplant Research
Center-Shiraz University of
Medical Sciences-Shiraz- Iran.

3- Blood Transfusion
Organization-Shahrekord-Iran.

Abstract

Background: Hepatitis type C virus (HCV) is one of the important threatened infectious blood born viruses in different populations. More than 300 million people were suffered from different HCV clinical complications all around the world. It is estimated that only 20% of HCV infected individuals will recover from this viral infection, while the rest become chronically infected. The majority of chronically infected individuals never exhibit symptoms, but approximately 10- 30% of these patients will eventually develop severe liver complications. In this research the prevalence of HCV Ab and the role of some demographic data in HCV incidence and clinical outcomes were determined.

Methods: In this retrospective study 11472 blood samples from, Iranian blood donors, Shahrekord city were collected for one year. The frequency of HCV Ab was analyzed with a third generation EIA method. The statistical relationships of different possible risk factors of HCV infection were analyzed by InStat software.

Results: The HCV Ab was diagnosed in 69 of 11472 (0.6%) serum samples. Significant correlations were detected between the history of HCV infection with marriage, tattooing, and doubtful sexual contact. Significant relationships were not defined between HCV infection with age, history of liver disease, and record of travel to abroad.

Conclusions: Significant relationships were find between HCV infection with marital status, history of tattooing and sexual contact, but significant correlations were not find between HCV infections with sex, history of liver disease and traveling to other countries.

Keywords: HCV infection, HCV Ab, demographic data, and EIA.

Corresponding author: Shiraz
Transplant Research Center -
Namazee Hospital, Shiraz
University of Medical Sciences,
Shiraz.
Tel: +98 -711-6276211
Fax: +98-711-6276211
email: rayaviro@yahoo.com