

فراوانی عفونت نهفته ویروس هپاتیت B در بیماران الوده به ویروس نقص ایمنی انسانی

آمیبتیس رضانی^{۱*}، مهرناز رسولی نژاد^۲، محمد بنی فضل^۳، آرزو آقاخانی^۴، علی اسلامی فر^۴، لطیف گچکار^۵ و مینو محرز^۲

۱. متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری، استادیار انستیتو پاستور ایران
 ۲. متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری، مرکز تحقیقات ایدز، دانشگاه علوم پزشکی تهران
 ۳. متخصص اطفال، انجمن حمایت از بیماران عفونی کشور
 ۴. پاتولوژیست، استادیار انستیتو پاستور ایران
 ۵. متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری، استاد مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
- * نشانی برای مکاتبه: تهران، خیابان پاستور، انستیتو پاستور ایران، گروه تحقیقات بالینی، تلفن: ۰۲۱۶۶۹۶۸۸۵۲، نمابر: ۰۲۱۶۶۴۶۵۱۴۷،
iiccom@iiccom.com

چکیده

سابقه و هدف: عفونت نهفته ویروس هپاتیت B (*Occult HBV infection*) به موارد عفونت HBV با HBsAg غیر قابل شناسایی در خون اطلاق می شود. مطالعات اخیر نشان می دهند که در بیمارانی که مبتلا به عفونت همزمان HBV و ویروس نقص ایمنی انسانی (HIV) هستند، HIV موجب افزایش تکثیر HBV و سیر سریع تر ضایعات کبدی به سمت سیروز و نارسایی کبدی می گردد. هدف از این مطالعه تعیین فراوانی عفونت نهفته ویروس هپاتیت B در بیماران HIV مثبت می باشد.

روش کار: ۱۰۶ بیمار HIV مثبت در این مطالعه وارد شدند. HBV-DNA در سرم بیماران به روش *Real time PCR* مورد بررسی قرار گرفت. در کلیه بیماران تعداد سلول های CD4، *anti-HCV*، *HBsAg*، *anti-HBs*، *ALT*، *Anti-HBc* و *HIV viral load* اندازه گیری شد.

یافته ها: از ۱۰۶ بیمار مورد مطالعه، ۲۲ بیمار (۲۰/۷۵٪) دارای *Anti-HBc* ایزوله بودند و HBV-DNA در ۳ بیمار از ۲۲ بیمار (۲۸-۰٪، CI ۹۵٪، ۱۳/۶٪) دارای *Anti-HBc* ایزوله شناسایی شد.

نتیجه گیری: عفونت نهفته HBV در بیماران HIV مثبت ایرانی نسبتا شایع است. لذا به نظر می رسد غربالگری این دسته از بیماران در پیشگیری از انتقال عفونت HBV به سایرین مفید باشد.

واژگان کلیدی: ویروس نقص ایمنی انسانی (HIV)، عفونت نهفته ویروس هپاتیت B (*Occult HBV infection*)

مقدمه

انسانی (HIV) هستند، HIV موجب افزایش تکثیر HBV و سیر سریع تر ضایعات کبدی به سمت سیروز و نارسایی کبدی می گردد. این ضایعات کبدی پیشرونده یکی از عوامل مهم موربیدیته و مورتالیتی در بیماران HIV مثبت می باشد که به درمان آنتی رتروویرال پاسخ مناسبی داده بودند (۸). در حال حاضر ایران از نظر شیوع HBV در منطقه با اندیمسیته پایین قرار دارد شیوع HBV در ایران بین ۱/۷٪ تا بیش از ۵٪ در بین استان های مختلف متغیر می باشد (۹، ۱۰). در مطالعه ای که در ایران بر روی ۴۹۳۰ نفر انجام گرفته، ۵/۱۳٪ افراد دارای *Anti-HBc* ایزوله بودند (۱۰). دو مطالعه دیگر در ایران میزان عفونت نهفته HBV را به ترتیب ۱/۹٪ و ۲۲٪ در بیماران مبتلا به هپاتیت مزمن گزارش کرده اند (۱۱، ۱۲). با توجه به اهمیت بالینی عفونت همزمان HBV در بیماران HIV مثبت بر آن شدید تا فراوانی عفونت نهفته ویروس هپاتیت B را در بیماران HIV مثبت تعیین نماییم.

ویروس هپاتیت B (HBV) عضو از خانواده هپادنا ویروس ها می باشد که دارای DNA دو رشته ای حلقوی است. عفونت با HBV یکی از مشکلات بهداشت عمومی در سراسر جهان و عامل اصلی هپاتیت مزمن، سیروز و کارسینوم سلول کبدی (HCC) می باشد. عفونت نهفته ویروس هپاتیت B (*Occult HBV infection*) به موارد عفونت HBV با HBsAg surface antigen) غیر قابل شناسایی (undetectable) در خون اطلاق می شود (۱). این عفونت از جنبه های مختلف بالینی حائز اهمیت است. اولاً می تواند عامل بالقوه انتقال HBV از طریق انتقال خون، همودیالیز ویا پیوند اعضا باشد. ثانیاً می تواند عاملی برای بیماری های کبدی کریپتوزنیک که به سمت هپاتیت مزمن، کارسینوم کبد و یا حتی هپاتیت فولمیننت پیش می روند باشد (۷-۱). مطالعات اخیر نشان می دهند که در بیمارانی که مبتلا به عفونت همزمان HBV و ویروس نقص ایمنی

روش کار

این مطالعه به صورت مقطعی بر روی ۱۰۶ بیمار HIV مثبت تحت پوشش مرکز تحقیقات ایدز دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت. پس از اخذ رضایت نامه و تکمیل فرم اطلاعاتی شامل مشخصات دموگرافیک از بیماران، نمونه خون گرفته شد. عفونت HIV با نتایج ۲ تست مثبت الیزا (MP Biomedicals, Illkirch, France) و یک وسترن بلات (Diaplus, San Francisco, USA) مثبت تایید شد.

HBsAg و Anti-HBs توسط روش الیزا با استفاده از کیت (Hepanostika bioMerieux, Boxtel, Netherlands) بررسی شد.

Anti-HCV و Anti-HBc به ترتیب با استفاده از کیت های الیزا (Biorad, Segrate, Italy) و (Dia-Pro Diagnostic, Milano, Italy) بررسی شدند. شمارش CD4 توسط فلوسیتومتری انجام گرفت. ALT بیماران نیز اندازه گیری شد.

استخراج HIV-RNA با استفاده از کیت High pure viral RNA kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) انجام شد. تعیین مقدار ویروس نمونه ها با روش real time PCR استفاده از کیت (Primer Design Ltd, Millbrook Technology campus, Southampton, UK) انجام گرفت.

HBV-DNA با استفاده از کیت High Pure Viral Nucleic Acid kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) از نمونه ها استخراج گردید و سپس توسط real time PCR با استفاده از کیت artus HBV RG PCR kit (QIAGEN, Hamburg, Germany) و دستگاه Rotor-Gene 3000 real-time thermal cycler (Corbett Research, Sydney, Australia) به صورت کمی تعیین شد. Analytical detection limit این کیت (۰/۱۱۲ copies/μL) بود. نتایج به صورت ۰/۲ IU/μL بیان شد. HBV DNA کمتر از (۲۸۰ copies/ml) ۰/۰۵ IU/μL به صورت کمتر از ۲۸۰ copies/ml ذکر گردید.

یافته ها با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۳ و آزمونهای اماری t و chi-square (با تست دقیق فیشر) تجزیه و تحلیل شد و مرز معنی داری اختلافات روی ۰/۰۵ < P قرار داده شد. داده ها به صورت means ± standard deviations و در صورت لزوم عدد مطلق یا در صد گزارش شدند. ضریب اطمینان (CI) ۹۵٪ نیز محاسبه گردید.

یافته ها

۱۰۶ بیمار (۷۹ مرد و ۲۷ زن) با میانگین سنی ۳۶/۶ ± ۹/۶ سال در این مطالعه وارد شدند. میانگین سلول های CD4 بیماران ۳۴۹/۰۸ ± ۱۸۱/۰۷ (۲-۹۴۰) cells/mm³ بود. میزان عفونت همزمان HIV با ویروس هپاتیت C ۶۷٪ و با ویروس هپاتیت B ۳/۸٪ بود. میانگین log₁₀ HIV Viral load بیماران ۱/۹۷ ± ۲/۰۳ و میانگین آنزیم کبدی ALT ۳۲/۴ ± ۲۰/۱ IU/l بود.

شایع ترین راه احتمالی انتقال HIV در بیماران تزریق مواد مخدر ۵۲/۸٪، انتقال از همسر الوده ۲۴/۵٪، هتروسکسوال ۳/۸٪، خون و محصولات آن

۴/۸٪، از مادر الوده ۳/۸٪، خالکوبی ۱٪، تزریق مواد مخدر و هتروسکسوال ۵/۶٪ و ناشناخته ۳/۷٪ تعیین گردید.

۲۲ بیمار (۲۰/۷۵٪) دارای Anti HBc ایزوله بودند مشخصات بیماران دارای Anti HBc ایزوله در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱: مشخصات بیماران دارای Anti-HBc ایزوله

مشخصات بیماران	مقادیر
جنس	۲۰
مذکر	۲
مؤنث	۳۶/۴ ± ۱۰/۳
سن (سال)	
منبع عفونت	
معتاد تزریقی	(۰/۷۲/۷)۱۶
هتروسکسوال	(۰/۹/۱)۲
همسر الوده	(۰/۴/۵۵)۱
از مادر	(۰/۴/۵۵)۱
معتاد تزریقی و هتروسکسوال	(۰/۹/۱)۲
log ₁₀ HIV Viral load	۲/۳ ± ۱/۹
CD4 count (cells/mm ³)	۳۶۲/۷ ± ۲۱۲/۵
ALT (IU/l)	۳۳/۷ ± ۲۸/۶
(+)Anti-HCV	(۰/۷/۳)۱۷
مصرف داروهای انتی رتروویرال	(۰/۴/۵)۱۰

HBV DNA در ۳ بیمار از ۲۲ بیمار (۱۳/۶٪، CI ۰-۲۸٪، ۹۵٪) دارای Anti HBc ایزوله شناسایی شد. سن متوسط این افراد ۳۴/۷ ± ۸/۱ سال بود. ۲ نفر از این بیماران مرد و یک نفر زن بود. کلیه این افراد معتاد به مواد مخدر تزریقی بوده و الودگی همزمان با HCV داشتند. میانگین سلول های CD4 بیماران ۳۴۲/۵ (۷۰-۱۵۵) cells/mm³ بود. میانگین log₁₀ HIV Viral load آنها ۲/۰۷ ± ۲/۶۹ و میانگین ALT بیماران ۱۶/۷ ± ۸/۶ IU/l بود. یک نفر از آنها تحت درمان با داروهای انتی رتروویرال بود ولی دو نفر دیگر دارویی دریافت نمی کردند. در ۲ بیمار HBV-DNA کمتر از ۲۸۰ copies/ml و در یک نفر HBV-DNA ۸۱۲ copies/ml، HBV-DNA، CD4، HIV viral load بیشتر داشت. او تحت درمان با زیدوودین، لامیوودین و نلفیناویر بود.

بحث

عفونت هپاتیت B مشکل بهداشتی در سراسر جهان می باشد که ۲ بلیون نفر در دنیا به این ویروس الوده بوده و ۳۵۰ میلیون نفر مبتلا به هپاتیت مزمن B می باشند که ۷۵٪ این افراد آسیایی هستند (۱۳).

در این مطالعه میزان عفونت نهفته HBV در بیماران HIV مثبت ۱۳/۶٪ گزارش شد. بررسی ما نشان داد که عفونت نهفته HBV در بیماران HIV مثبت علیرغم سن، جنس، سطوح امینوترانسفرازها و درمان با داروهای انتی رتروویرال نسبتا شایع می باشد.

چندین تئوری در مورد مکانیسم های احتمالی ایجاد عفونت نهفته ویروس هپاتیت B ذکر شده است که شامل موارد زیر می باشد: ۱- موتاسیون های موجود در HBV-DNA ۲- ادغام HBV-DNA در کروموزوم های میزبان ۳- الودگی سلول های منونوکلر خون محیطی با HBV ۵- تشکیل کمپلکس های ایمنی حاوی HBV ۶- تغییرات پاسخ ایمنی میزبان ۷- تداخل HBV با سایر ویروس ها (۱).

نهفته HBV عفونت همزمان با HCV داشتند. با این حال به جهت تعداد محدود بیماران نتیجه گیری در مورد ارتباط این دو عفونت مشکل می باشد.

گرچه برخی بررسی ها به اثرات محافظتی درمان با داروهای انتی رتروویرال در عفونت نهفته HBV اشاره می نمایند(۲۳) با این حال باید در نظر داشت که HBV-DNA حتی در بیمارانی که تحت درمان با داروهای فوق هستند نیز یافت می شود(۲۵). همانگونه که در یکی از بیماران ما مشاهده شد.

نتیجه گیری

عفونت نهفته HBV در بیماران HIV مثبت ایرانی نسبتا شایع است لذا به نظر می رسد غربالگری این دسته از بیماران در پیشگیری از انتقال عفونت HBV به سایرین مفید می باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از انستیتو پاستور ایران و مرکز تحقیقات ایدز، دانشگاه علوم پزشکی تهران به جهت حمایت مالی از طرح فوق قدردانی می نمایند.

شیوع دقیق Occult HBV infection در بیماران HIV مثبت کاملا مشخص نمی باشد. این میزان از ۰ تا ۱۰٪ در مطالعاتی که PCR استاندارد انجام داده اند تا ۸۹-۳۵٪ در مطالعاتی که از روش های حساس تر استفاده کرده اند متغیر می باشد (۱۹-۱۴). در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۴ توسط Shire و همکاران بر روی بیماران HIV مثبت انجام شد میزان عفونت نهفته ویروس هپاتیت B ۱۰٪ بیان شد(۱۹). در مطالعه ای دیگر توسط همین محقق در سال ۲۰۰۷ این میزان ۳/۴۱٪ برآورد گردید(۲۰). در بررسی که توسط Santose از برزیل بر روی بیماران HIV مثبت انجام شد ۲۰٪ بیماران دارای occult HBV بودند(۲۱). مطالعه ای دیگر در همین کشور این میزان را ۱۹٪ گزارش کرد(۲۲). Rai و Nebbia فراوانی عفونت نهفته HBV را به ترتیب ۱۴٪ و ۱۲/۲٪ گزارش کردند (۲۴، ۲۳). در مطالعه ای که توسط Quarleri بر روی ۵۹۳ بیمار HIV مثبت ارژانتینی صورت گرفت ۷۲ نفر دارای Anti-HBc ایزوله بودند که از این میان در ۴ نفر HBV-DNA یافت شد(۲). میزان عفونت نهفته HBV در بررسی ما ۱۳/۶٪ می باشد که با مطالعات Rai و Nebbia (۲۴، ۲۳) همخوانی دارد. گزارشات متناقضی در خصوص همراهی عفونت HCV و عفونت نهفته HBV در بیماران HIV مثبت مطرح می باشد (۲۱، ۱۸، ۱۶). در مطالعه ما کلیه بیماران دارای عفونت

REFERENCES

1. Hu K. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implication. *J Viral Hepat*. 2002; 9(4):243-57
2. Quarleri J, Moretti F, Bouzas MB, Laufer N, Carrillo MG, Giuliano SF, et al. Hepatitis B virus genotype distribution and its lamivudine-resistant mutants in HIV-coinfected patients with chronic and occult hepatitis B. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2007 Apr;23(4):525-31
3. Huo TI, Wu JC, Lee PC, Chau GY, Lui WY, Tsay SH, et al. Sero-clearance of hepatitis B surface antigen in chronic carriers does not necessarily imply a good prognosis. *Hepatology* 1998; 28: 231-236
4. Zhang YY, Nordenfelt E, Hansson BG. Increasing heterogeneity of the 'a' determinant of HBsAg found in the presumed late phase of chronic hepatitis B virus infection. *Scand J Infect Dis* 1996; 28: 9-15
5. Liang TJ, Baruch Y, Ben-Porath E, Enat R, Bassan L, Brown NV, et al. Hepatitis B virus infection in patients with idiopathic liver disease. *Hepatology* 1991; 13: 1044-1051
6. Chung HT, Lai CL, Lok AS. Pathogenic role of hepatitis B virus in hepatitis B surface antigen-negative decompensated cirrhosis. *Hepatology* 1995; 22: 25-29
7. Paterlini P, Gerken G, Nakajima E, Terre S, D'Errico A, Grigioni W, et al. Polymerase chain reaction to detect hepatitis B virus DNA and RNA sequences in primary liver cancers from patients negative for hepatitis B surface antigen. *N Engl J Med* 1990; 323: 80-85
8. Thio CL. Hepatitis B in the human immunodeficiency virus-infected patient: epidemiology, natural history, and treatment. *Semin. Liver Dis*. 2003; 23: 125-136.
9. Alavian SM, Fallahian F, Lankarani KB. The changing epidemiology of viral hepatitis B in Iran. *J Gastrointest Liver Dis* 2007 Dec; 16(4):403-6.

10. Merat S, Malekzadeh R, Rezvan H, Khatibian M. Hepatitis B in Iran. *Arch Iran Med* 2000; 3: 192–201.
11. Honarkar Z, Alavian SM, Samiee S, Saeedfar K, Zali MR: Occult hepatitis B among chronic liver disease patients. *Saudi Med J*. 2005; 26(4):601-6.
12. Kaviani MJ, Behbahani B, Mosallai MJ, Sari-Aslani F, Taghavi SA: Occult hepatitis B virus infection and cryptogenic chronic hepatitis in an area with intermediate prevalence of HBV infection. *World J Gastroenterol*. 2006;12(31):5048-5050
13. Lee WM: Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1997; 337:1733-1745.
14. Neau D, Winnock M, Jouvencel AC, Faure M, Castera L, Legrand E, et al. Occult hepatitis B virus infection in HIV-infected patients with isolated antibodies to hepatitis B core antigen: Aquitaine cohort, 2002-2003. *Clin Infect Dis*. 2005; 40:750–753.
15. Nunez M, Rios P, Perez-Olmeda M, Soriano V. Lack of ‘occult’ hepatitis B virus infection in HIV-infected patients. *AIDS*. 2002; 16:2099–2101.
16. Piroth L, Binquet C, Vergne M, Minello A, Livry C, Bour JB, et al. The evolution of hepatitis B virus serological patterns and the clinical relevance of isolated antibodies to hepatitis B core antigen in HIV infected patients. *J Hepatol* 2002; 36:681–686.
17. Goncales FL, Jr., Pereira JS, Da Silva C, Thomaz GR, Pavan MH, et al. Hepatitis B virus DNA in sera of blood donors and of patients infected with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003; 10:718–720.
18. Hofer M, Joller-Jemelka HI, Grob PJ, Luthy R, Opravil M. Frequent chronic hepatitis B virus infection in HIV-infected patients positive for antibody to hepatitis B core antigen only. *Swiss HIV Cohort Study*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998; 17:6–13.
19. Shire NJ, Rouster SD, Rajjic N, Sherman KE. Occult hepatitis B in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004; 36:869–875.
20. Shire NJ, Rouster SD, Stanford SD, Blackard JT, Martin CM, Fichtenbaum CJ, et al. The prevalence and significance of occult hepatitis B virus in a prospective cohort of HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2007;44(3):309-14
21. Santos EA, Yoshida CF, Rolla VC, Mendes JM, Vieira IF, Arabe J, et al. Frequent occult hepatitis B virus infection in patients infected with human immunodeficiency virus type 1. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2003; 22(2):92-8.
22. Sucupira MV, Mello FC, Santos EA, Niel C, Rolla VC, Arabe J, et al. Patterns of hepatitis B virus infection in Brazilian human immunodeficiency virus infected patients: high prevalence of occult infection and low frequency of lamivudine resistant mutations. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2006;101(6):655-60
23. Nebbia G, Garcia-Diaz A, Ayliffe U, Smith C, Dervisevic S, Johnson M, et al. Predictors and kinetics of occult hepatitis B virus infection in HIV-infected persons. *J Med Virol*. 2007 Oct;79(10):1464-71
24. Rai RR, Mathur A, Mathur D, Udawat HP, Nepalia S, Nijhawan S, et al. Prevalence of occult hepatitis B & C in HIV patients infected through sexual transmission. *Trop Gastroenterol*. 2007;28(1):19-23
25. Fujiwara K, Tanaka Y, Orito E, Ohno T, Sugauchi F, et al. Lack of association between occult hepatitis B virus DNA viral load and aminotransferase levels in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19:1343–1347.