Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 16:36 +0430 on Thursday May 24th 2018

Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2017; 20(119): 46-53

# Study of Parvovirus 4 Infection in HCV Infected Patients and Healthy Individuals Referred to Taleghani Hospital, Tehran

Hosna Rastegarpouyani[1], Seyed Masoud Hosseini[2], Seyed Reza Mohebbi[3*], Pedram Azimzadeh[4], Shabnam Kazemian[5], Mahsa Saeedi Niasar[6], Afsaneh Sharifian[7], Mohammad Reza Zali[8]

1.MSc in Microbiology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2. Associate Professor, PhD of Virology, Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
3. Assistant Professor, PhD of Virology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. Instructor, PhD Student in Cellular and Molecular Biology,Basic and Molecular Epidemiology of Gastrointestinal Disorders Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5. MS.c Student in Cellular and Molecular Biology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
6. MS.c Student in Developmental Biology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
7. Associate Professor, Specialist in Gastroenterology and Hepatology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
8. Full Professor, Specialist in Gastroenterology and Hepatology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 29 Oct 2016, Accepted: 12 Mar 2017

**Abstract**

***Background:*** Parvovirus 4 (PARV4) was first discovered in 2005, in a hepatitis B virus–infected injecting drug user (IDU). To date, the best evidence about PARV4 transmission is parenteral roots and comes from IDU individuals. It seems that the prevalence of the virus in the normal population is very low. In this study, we investigated the prevalence of PARV4 virus among patients with chronic HCV infection compared with healthy controls and related risk factors among these groups.

***Materials and Methods:*** A total of 206 patients, including 103 patients with chronic HCV infection and 103 healthy controls, were studied by use of nested-PCR and also real-time PCR techniques.

***Results:*** AST enzyme levels with a mean of 40.45±34.84 and 18.58±5.9 in patients and healthy group respectively and the amount of enzyme ALT among patients with a mean of 40.45±35.75 and 21.50±11.35 in patients and healthy group respectively, were reported. Finally, after screening all DNA samples from patients and controls, we discovered that none of these people are infected with the PARV4 virus.

***Conclusion:*** This study is the first to investigate the occurrence of PARV4 among HCV patients in Iran. The results show that, the virus is not important in Iranian population, even in patients with blood born infections such as HCV and further studies in other areas and various groups are required.

***Keywords:*** Chronic infection, Hepatitis C virus, Parvoviridae, Parvovirus 4

*Corresponding Author:
Address: Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Taleghani Hospital, Parvaneh Ave, Yaman Ave., Velenjak, Tehran, Iran
Email: srmohebbi@sbmu.ac.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 16:36 +0430 on Thursday May 24th 2018

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۲۰، شماره ۲ (شماره پیاپی ۱۱۹)، اردیبهشت ۱۳۹۶، ۵۳-۴۶

# بررسی عفونت پارووویروس ٤ در بیماران دچار هپاتیت C و افراد سالم مراجعه کننده به بیمارستان طالقانی تهران

**حسنا رستگارپویانی[۱]، سید مسعود حسینی[۲]، سید رضا محبی[۳*]، پدرام عظیم زاده[٤]، شبنم کاظمیان[٥]، مهسا سعیدی نیاسر[٦]، افسانه شریفیان[۷]، محمدرضا زالی[۸]**

۱.کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲.دانشیار، دکترای ویروس شناسی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۳.استادیار، دکترای ویروس شناسی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴. مربی، دانشجوی دکترای زیست شناسی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۵.دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۶.دانشجوی کارشناسی ارشد تکوین، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۷.دانشیار، فوق تخصص گوارش و کبد، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۸. استاد تمام، فوق تخصص گوارش و کبد، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۸ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۲۲

## چکیده

**زمینه و هدف:** پارووویروس ۴ (PARV4) اولین بار در سال ۲۰۰۵ در یک معتاد تزریقی مبتلا به هپاتیت B مشاهده شد. تاکنون بیش‌ترین احتمال انتقال این بیماری از راه خون و در میان معتادان تزریقی مشاهده شده است. فراوانی عفونت با این ویروس در جمعیت سالم بسیار پایین است. در مطالعه حاضر، فراوانی عفونت PARV4 در میان بیماران دچار عفونت مزمن HCV در مقایسه با افراد سالم و فاکتورهای خطر مرتبط در میان این گروه‌ها بررسی شد.

**مواد و روش‌ها:** در مجموع، تعداد ۲۰۶ نفر شامل ۱۰۳ بیمار دچار عفونت مزمن HCV و ۱۰۳ فرد سالم به عنوان گروه کنترل با روش nested-PCR و هم‌چنین real time-PCR مورد بررسی قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** سطح آنزیم AST در میان افراد بیمار با میانگین $40.45\pm34.84$ و در میان افراد کنترل با میانگین $18.58\pm5.9$ و این میزان برای آنزیم ALT در میان افراد بیمار با میانگین $40.45\pm35.75$ و در میان افراد کنترل با میانگین$21.50\pm11.35$ گزارش شد. در نهایت، پس از بررسی تمامی نمونه‌های بیمار و کنترل، مشاهده شد که هیچ کدام از این افراد به ویروسPARV4 آلوده نیستند.

**نتیجه‌گیری:** تحقیق حاضر، اولین مطالعه‌ای است که فراوانی عفونت با ویروس PARV4 را در گروه مبتلا به ویروس هپاتیت C در ایران مورد بررسی قرار می‌دهد و نتایج آن نشان می‌دهد که این ویروس اهمیت بالایی در جمعیت‌های ایرانی، حتی در افراد دچار عفونت‌های منتقل شونده از راه خون همانند HCV ندارد و مطالعات بیش‌تری در مناطق دیگر ایران و در گروه‌های مختلف مورد نیاز می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** ویروس هپاتیت C، عفونت مزمن، پارووویریده، پارووویروس ۴

***نویسنده مسئول:** ایران، تهران، ولنجک، خیابان یمن، خیابان پروانه، بیمارستان طالقانی، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد

Email:srmohebbi@sbmu.ac.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 16:36 +0430 on Thursday May 24th 2018

**مقدمه**

پاروویروس ۴ با نام اختصاری(PARV4) و عضوی از خانواده پاروویریده، اولین بار در سال ۲۰۰۵ در یک بیمار با علائم حاد بیماری ویروسی، شناسایی شد. بیمار یک معتاد تزریقی و مبتلا به هپاتیت B بود و به علت علائم بالینی مشاهده شده، مشکوک به ابتلا به ویروس نقص سیستم ایمنی (HIV) نیز بود اما نتیجه‌ی تست RNA مربوطه، منفی گزارش شد و چون در نهایت بیمار فوت کرد، مشخص نشد که این علائم با عفونت اولیه‌ی PARV4 در ارتباط بودند یا خیر(۱) این ویروس‌ها دارای کپسیدی کوچک(با قطر تقریبی ۲۵ نانومتر) و با تقارن بیست وجهی، تشکیل شده از ۶۰ کپی از پروتئین‌های کپسیدی و ساختاری ثابت هستند که به رسپتورهای سلول میزبان متصل می‌شوند. این ویروس‌ها حاوی ژنومی با DNA تک رشته‌ای(ssDNA) و خطی با تعداد کمی ژن بوده (طول تقریبی ۴ تا ۶ کیلو باز) که حاوی ساختارهای سنجاق سری در هر دو انتها می‌باشد(۳). ایزوله‌های PARV4 به سه ژنوتایپ طبقه بندی شده‌اند. ژنوتایپ‌های شماره‌ی ۱ و ۲ که شماره ۱، در ابتدا به نام PARV5 نام‌گذاری شد، هر دو در اروپا و آمریکای شمالی شایع هستند و ژنوتیپ شماره ۳ در آفریقا گسترده است. تنوع ژنتیکی در هر ژنوتایپ به میزان حداقل می‌باشد که منجر به این نتیجه‌گیری می‌شود که پخش و گسترش هر کدام، یک پدیده‌ی تقریبا اخیر بوده است و این ژنوتایپ‌ها احتمالا طی ۲۰ تا ۳۰ سال گذشته از یکدیگر منشا شده‌اند(۳).

تاکنون هیچ‌گونه سندرم کلینیکی تعریف شده‌ای در رابطه با عفونت PARV4 گزارش نشده است. اولین فرد مبتلایی که گزارش شد، علائم بیماری حاد ویروسی داشت اما به علت فوت بیمار، هم‌چنان مشخص نیست که آیا این علائم با عفونت اولیه‌ی PARV4 در ارتباط است یا این‌که به علت همزمانی عفونت، با ویروس هپاتیت B رخ داده است. به نظر می‌رسد که در اکثر موارد، این ویروس خود محدود شونده و بدون علامت است و هم‌چنین هیچ‌گونه ارتباط سازگاری با افزایش شدت بیماری‌های ویروسی خونی ندارد. با این حال، در تعداد کمی از گزارش‌ها، طیف وسیعی از بیماری‌های احتمالی در افرادی با شواهد عفونت PARV4 چه در گذشته و چه اکنون تعریف شده است. شامل علائم تنفسی یا گوارشی، هپاتیت، راش و انسفالیت. هم‌چنین در یک مطالعه بر روی بیماران مبتلا به هموفیلی که فاکتورهای انعقادی گرفته شده از پلاسما را دریافت کرده بودند، علائم خفیفی مشابه آنفولانزا، راش و تشدید علائم هپاتیت مهم‌ترین علائم این بیماران در نظر گرفته شد. قابل توجه این‌که اکثر این مطالعات تعداد بسیار کمی از بیماران را شرح داده‌اند و هیچ یک قادر به نسبت دادن ظهور این علائم بالینی به PARV4 نیست(۲) (۴). DNA مربوط به PARV4 در منابع پلاسما، مغز استخوان، بافت لنفوئیدی، پوست و نمونه‌های کبدی شناسایی شده است. اما مشخص نیست که هیچ یک از این بافت‌ها مکان اولیه‌ی تکثیر و همانندسازی در بدن هستند یا خیر. هم‌چنین پتانسیل انتقال از طریق جفت نیز در مجموعه‌ی کوچکی در تایوان نیز گزارش شده است(۴). هم‌چنین طی مطالعه‌ای DNA این ویروس در مایع مغزی-نخاعی دو کودک در هند که به نوعی انسفالی ناشناخته نیز مبتلا بودند یافت شده است(۵). در مطالعه‌ای بر روی کودکان در غرب آفریقا که علائم بیماری تنفسی یا گوارشی را داشتند، فرکانس حضور DNA این ویروس در نمونه‌های بینی و مدفوعی بین ۰/۵ تا ۰/۸ درصد اعلام شد و این نشان‌دهنده‌ی پتانسیل این ویروس برای انتقال از طریق راه‌های تنفسی یا مدفوعی-ادراری می‌باشد(۶). در کل ویروس PARV4 آلودگی شایع منابع پلاسمایی بوده و می‌تواند به طور تقریبی در ۴ درصد از منابع پلاسمایی شناسایی شود. علاوه بر آن، ویروس در تقریبا ۳ درصد از اهدا کنندگان در ایالات متحده آمریکا و تایلند نیز یافت شده است. اگرچه که اطلاعات منتشر نشده پیشنهاد می‌کند که این میزان در اهدا کنندگان در اروپا کم‌تر است. در کل آمارها نشان می‌دهند که DNA این ویروس در ۰ تا ۵ درصد از افراد سالم اهدا کننده خون (با میانگین ۱ درصد) و تا ۸۵ درصد از افراد مبتلا به ایدز

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 16:36 +0430 on Thursday May 24th 2018

و HIV مثبت که معتاد تزریقی هم بودند، یافت شده است. فرکانس همزمانی عفونت این ویروس با ویروس HCV نیز از صفر تا ۳۰ درصد متغیر بوده است. پیشنهاد می‌شود که همراهی شایع عفونت PARV4 در افراد HIV مثبت و HCV مثبت، مبتنی بر مسیرهای انتقالی مشترک بین این ویروس هاست(۷).

علی‌رغم فقدان شاهدی در ارتباط با بیماری‌زایی PARV4، نگرانی‌های متعددی درباره‌ی عملکردهای این ویروس وجود دارد. از طرفی، پارووویروس‌های حیوانی مربوط نیز پتانسیلی برای ایجاد علائم قابل توجه مانند تب، کاهش جنین و سرکوب سیستم ایمنی در خوک را دارند بنابراین ممکن است که پارووویروس‌ها که راه خود را به میزبان انسانی ایجاد کرده‌اند در نهایت مسئول طیف بیش‌تری از پاتولوژی‌های قابل توجه باشند. علاوه بر آن، ریشه‌های انتقال از راه خون PARV4 و شیوع بالای آن در موارد همزمانی عفونت با دیگر ویروس‌های خونی، بیماران با نقص سیستم ایمنی را در معرض خطر ویژه‌ی کسب عفونت قرار می‌دهد. این‌ها غالبا افرادی هستند که به تظاهرات بالینی بسیار حساس هستند(۸).

ویروس هپاتیت C (HCV) نیز عامل حدود ۹۰ درصد از هپاتیت‌های non-A, non-B و یکی از عوامل اصلی هپاتیت مزمن بوده که می‌تواند منجر به سیروز و سرطان کبد شود. در حال حاضر حدود ۱۵۰ تا ۲۰۰ میلیون نفر (حدود ۳ درصد از جمعیت جهان) مبتلا به عفونت هپاتیت C هستند. این ویروس از خانواده *Flaviviridae* می‌باشد. ژنوم ویروس به صورت یک مولکول RNA تک رشته‌ای خطی با پلاریته مثبت بوده که دارای حدود ۹۵۰۰ نوکلئوتید است(۲). تاکنون همزمانی عفونت هپاتیت C با دیگر عفونت‌ها نظیر HIV در بسیاری از مطالعات نشان داده شده.از آنجایی‌که مطالعات بسیار اندکی در رابطه با ویروس PARV4 در کشورمان انجام شده است، در مطالعه پیش رو بر آن شدیم که شیوع این ویروس را در میان بیماران مبتلا به هپاتیت C و هم‌چنین افراد سالم و نیز اثرات احتمالی ویروس را بررسی کنیم.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع مورد-شاهدی با کد مجوز اخلاقی IR.SBMU.RIGLD.REC.1395.77 بوده و جهت بررسی میزان شیوع ویروس PARV4 در میان بیماران مبتلا به هپاتیت C و هم‌چنین افراد کنترل سالم انجام شد. نمونه‌های بیمار از میان مراجعه کنندگان به مرکز تحقیقات گوارش و کبد بیمارستان طالقانی انتخاب شد و از همه‌ی افراد به علاوه‌ی گروه کنترل، رضایت نامه آگاهانه کتبی اخذ گردید. پس از بررسی‌های آماری مورد نیاز و مطالعه دیگر مطالعات مشابه انجام شده تعداد ۱۰۳ نمونه بیمار و ۱۰۳ نمونه کنترل سالم در نظر گرفته شدند. در مورد هر دو گروه اطلاعاتی شامل سن، جنس، سابقه ابتلا به دیگر بیماری‌های عفونی و وضعیت استعمال دخانیات تهیه گردید. پس از جداسازی پلاسما از نمونه‌های خون، استخراج DNA ویروس به کمک کیت تجاری کیاژن (QIAGen DNA extraction) انجام شد. با استفاده از پرایمرهای تایید شده مطالعات پیشین، فرآیندهای بررسی نمونه‌ها با روش nested PCR و هم‌چنین روش real-time PCR انجام گردیدند(۱).

در روش nested PCR به طور خلاصه پرایمرهای پیش برنده 5´- AAGACTACATACCTACCTGTG -3´ و پرایمر معکوس 5´- GTGCCTTTCATATTCAGTTCC -3´ برای استفاده در راند اول PCR و هم‌چنین پرایمر پیش برنده 5´- GTTGATGGYCCTGTGGTTAG-3´ و پرایمر معکوس 5´- CCTTTCATATTCAGTTCCTGTTCAC -3´ استفاده شده در راند اول جهت راه اندازی PCR در راند دوم در نظر گرفته شدند. به دلیل عدم وجود نمونه‌ی کنترل سالم جهت اطمینان از صحت انجام PCR، با استفاده از توالی مشخص گرفته شده از Gene Bank به عنوان الگو، قطعه مورد نظر جهت سنتز به شرکت GeneRay (چین) سفارش

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 16:36 +0430 on Thursday May 24th 2018

داده شد و در نهایت در حامل pGH کلون گردید. پس از آن رقت‌های گوناگونی از پلاسمید تهیه شد و بهترین برنامه PCR با کمترین رقت پلاسمید راه اندازی شد. با استفاده از این پلاسمید به عنوان کنترل سالم، برنامه nested PCR در راند اول شامل ۹ دقیقه و دمای ۹۵ درجه برای دناتوراسیون اولیه (First denaturation)، ۴۰ سیکل با برنامه ۳۰ ثانیه در ۹۵ درجه، ۳۰ ثانیه در ۵۸ درجه و ۱ دقیقه در ۷۲ درجه برای به ترتیب مراحل دناتوراسیون (Denaturation)، جفت شدن (Annealing) و طویل سازی (Elongation) و به دنبال آن ۷ دقیقه در دمای ۷۲ درجه برای طویل سازی نهایی (final Elongation) در نظر گرفته شد. پس از انجام راند اول، میزان ۲ میکرولیتر از محصول به دست آمده را به راند دوم PCR و با برنامه ۹ دقیقه در ۹۵ درجه، ۳۰ ثانیه در ۹۵ درجه، ۳۰ ثانیه در ۵۶ درجه، ۱ دقیقه در ۷۲ درجه و در نهایت ۷ دقیقه در ۷۲ درجه در مراحل ذکر شده در بالا و با تکرار چرخه به میزان ۴۰ سیکل، برده شدند. پس از اتمام راند دوم PCR، هر دو محصول راند اول و راند دوم، جهت بررسی تکثیر قطعه مورد نظر، روی ژل آگارز ۲ درصد، الکتروفورز گردیدند. و پس از آن حضور و یا عدم حضور قطعه‌ی تکثیر شده‌ی احتمالی با طول ۲۲۰ جفت باز در راند ۱ و ۱۵۹ جفت باز در راند ۲، مورد بررسی قرار گرفت(شکل ۱). هم‌چنین جهت اطمینان از صحت نتایج به دست آمده، تمامی ۱۰۳ نمونه بیمار و ۱۰۳ نمونه کنترل سالم توسط دستگاه real-PCR time نیز چک شدند. برنامه real-time PCR به صورت ۱۰ دقیقه در ۹۵ درجه، ۱۵ ثانیه در ۹۵ درجه و ۱ دقیقه در ۶۰ درجه و با میزان ۵/. میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای پیش برنده‌ی 5´- CTAAGGAAACTGTTGGTGATATTGCT -3´ و معکوس 5´- GGCTCTCCTGCGGAATAAGC -3´ و ۲ میکرولیتر از پروب با توالی 5´- FAM- TGTTCAACTTTCTCAGGTCCTACCGCC C –TAMRA -3´ ، ۰/۰۸ میکرولیتر از راکس و ۱۰ میکرولیتر از real-time Master Mix و ۵ میکرولیتر از DNA استخراج شده، جهت تکثیر قطعه‌ای با طول ۱۰۳ جفت باز راه اندازی شد. نتایج حاصله مورد بررسی و آنالیزهای آماری قرار گرفتند.

## یافته‌ها

از کل ۲۰۶ فرد مورد مطالعه با میانگین سنی ۱۳/۲۳±۴۲/۹۳ با بیش‌ترین سن ۷۵ سال و کم‌ترین سن ۲۰ سال، ۱۲۴ نفر مرد (۶۰/۲ درصد) و ۸۲ نفر زن (۳۹/۸ درصد) بودند. میانگین سطح آنزیم AST در میان آنها ۲۷/۲۳±۲۹/۵۱ و میانگین سطح آنزیم ALT ۲۸/۷۴±۳۲/۹۹ گزارش شد. که به تفکیک، از ۱۰۳ بیمارمبتلا به هپاتیت C با میانگین سنی ۱۳/۷۵±۴۳/۷۳ سال، ۸۱ نفر ( ۷۸/۶ ٪) مرد و ۲۲ نفر (۲۱/۴ درصد) زن بودند.در این میان ۳۰ نفر (۲۹/۱ درصد) به عفونت HIV نیز مبتلا بودند که ۲۷ نفر (۹۰ درصد) از آنها مرد و ۳ نفر (۱۰ درصد) از آنها زن بودند. از ۱۰۳ نفر مورد کنترل نیز که به صورت داوطلبانه در این تحقیق شرکت کرده بودند، میانگین سنی ۱۲/۷۱±۴۲/۱۳ سال گزارش شده که از بین این افراد، ۴۳ نفر (۴۱/۷ درصد) مرد و ۶۰ نفر (۵۸/۳ درصد) زن بودند. از نظر آماری اختلاف معناداری در میان میانگین سنی افراد بیمار وکنترل وجود نداشت(P=۰/۷۵).

پراکنش جغرافیایی افراد کنترل به ترتیب با ۴۰/۸ درصد فارس، ۲۷/۲ درصد ترک، ۱۰/۷ درصد کرد، ۸/۷ درصد لر، ۶/۸ درصد مازندرانی، ۴/۹ درصد مازندرانی و ۱ درصد عرب گزارش شد که از میان آنها ۲۷ نفر (۲۶/۲ درصد) واکسن هپاتیت B را زده بودند. سوابق دیگری از افراد کنترل برای در نظر گرفتن فاکتورهای خطر بررسی شد و نتایج گزارش شد. ۴۴ نفر(۴۲/۷ درصد) از این افراد، سابقه جراحی در ۱۰ سال اخیر را داشتند، ۲۱ نفر (۲۰/۴ درصد) سابقه‌ی حجامت، و ۱۸ نفر (۱۷/۵ درصد) نیز سابقه‌ی اندوسکوپی داشتند. هیچ یک از افراد کنترل به بیماری‌های HBV ،

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 16:36 +0430 on Thursday May 24th 2018

HCV و HIV مبتلا نبودند. هم‌چنین سطح آنزیم‌های کبدی در هر دو گروه اندازه‌گیری شد. این میزان برای آنزیم AST در میان افراد بیمار با میانگین ۳۴/۸۴±۴۰/۴۵ و در میان افراد کنترل با میانگین ۵/۹±۱۸/۵۸ گزارش شد. توزیع نمونه‌ها با آزمون کای دو ( Chi Square Test) بررسی شد و اختلاف معناداری بین دو گروه یافت نشد(P=۰/۰۶۳). هم‌چنین این میزان برای آنزیم ALT در میان افراد بیمار با میانگین ۳۵/۷۵±۴۰/۴۵ و در میان افراد کنترل با میانگین ۱۱/۳۵±۲۱/۵۰ گزارش شد و مجددا پس از بررسی توزیع نمونه‌ها با آزمون کای دو، اختلاف معناداری بین این دو گروه یافت نشد(P=۰/۴۱). در نهایت پس از بررسی تمامی نمونه‌های افراد بیمار و کنترل از لحاظ دارا بودن DNA پاروویروس۴، مشاهده شد که هیچ کدام از این افراد به این ویروس آلوده نیستند. تمامی آنالیزهای آماری توسط نرم افزار (IBM SPSS Statistic 13) انجام شد.

## نتیجه گیری

این مطالعه اولین مطالعه‌ای است که فرکانس شیوع ویروس PARV4 را در میان جمعیت‌های سالم و هم‌چنین مبتلا به هپاتیت C ایرانی را گزارش می‌دهد. از طرفی به دلیل شیوع ۰/۵ درصدی ویروس هپاتیت C در ایران و اهمیت شناخت هر چه بیش‌تر این ویروس، بر آن شدیم که فرکانس شیوع ویروس PARV4 را در میان دو گروه بیماران مبتلا به هپاتیت C و افراد کنترل سالم بررسی کنیم. در مطالعه‌ی پیش رو، هیچ‌گونه شاهدی مبنی بر حضور DNA ویروس PARV4 مشاهده نشد، که این نتیجه با نتایج مشاهده شده در میان مطالعات انجام شده در کشورهای فنلاند، سوئد و که هیچ‌یک نتوانستند DNA این ویروس را در نمونه‌های تنفسی، نمونه‌های سرمی و بیوپسی بافتی پیدا کنند، هم‌خوان بود(۹) (۱۰).

با وجود این، شیوع ویروس PARV4 در مطالعات دیگری به میزان نسبتا بالایی گزارش شده است. در تحقیقی در میان کودکان ۱۵ ماهه در غنا، فرکانس شیوع DNA این ویروس ۹-۲ درصد اعلام شد. (۱۱) (۱۲). در مطالعه‌ای در تایوان،حضور DNA ویروس PARV4 در پلاسمای ۳ مادر و نوزادان تازه متولد شده‌ی آن‌ها با هیدروپس، نشان‌دهنده‌ی انتقال از طریق جفت برای این ویروس بود(۴). علائم ویروس هنوز کاملا شناخته شده نیست. گزارش‌های محدودی، علائم بالینی و بیماری‌هایی را که احتمالا با این ویروس در ارتباط است، گزارش داده‌اند. در یک مطالعه، پیشنهاد شده که PARV4 عامل ایجاد انسفالی در دو کودک با لود ویروسی بالا و تیتر IgM مثبت و IgG منفی در سرم آن‌ها، می‌باشد(۱۳). مطالعه‌ی دیگری در ایتالیا، نقشی در بیماری‌زایی در کبد و کلیه را برای این ویروس، گزارش می کند(۱۳). هم‌چنین، ژنوتیپ شماره‌ی ۳ از این گروه ویروسی اخیرا در ۸ مورد از ۹۶۱ نمونه‌ی دماغی(۰/۸۳ درصد) و ۵ مورد از ۹۴۳ نمونه‌ی مدفوعی (۰/۵۳ درصد) در کودکان زیر ۱۵ سال در غنا یافت شده است(۶). با وجود این، هیچ‌کدام از این مطالعات نمی‌توانند رابطه‌ای میان بیماری های تنفسی و گوارشی و ابتلای به عفونت PARV4 را نشان دهند. در مطالعه‌ی ما نیز عدم وجود DNA ویروس در افراد کنترل و با وجود داشتن فاکتورهای خطر مختلف و با فرکانس بالا، مانند اندوسکپی و حجامت، رابطه‌ای میان انتقال ویروس از راه‌های خونی و احتمال ابتلا را نشان نداد.

به دلیل نگرانی‌های حاصل از انتقال ویروس از طریق محصولات خونی، مطالعات بسیاری بر روی نمونه‌های اهدا کننده و افراد سالم در نقاط مختلف انجام شده است. در چین شیوع نسبتا بالایی و به میزان ۲۶/۱۵ درصد در منابع پلاسمایی گزارش شد(۱۴) و در تضاد با آن، در مطالعه‌ای در بریتانیا در میان ۶۰۸ نمونه‌ی خون اهدایی، DNA ویروس PARV4 در هیچ‌یک از نمونه‌ها یافت نشد(۱۵). هم‌چنین در سال ۲۰۰۶ در تحقیقی در ایالات متحده آمریکا شیوع ویروس در کمتر از ۵ درصد از نمونه‌ها گزارش شد(۱۵). به نظر می‌رسد که نتایج ما در میان افراد کنترل به نتایج گزارش شده از کشورهای

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 16:36 +0430 on Thursday May 24th 2018

اروپایی نزدیک‌تر باشد تا به کشورهای اسیایی نظیر چین. هم‌چنین در رابطه با تحقیقات مشابه در میان بیماران مبتلا به HCV یا HIV، در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۷ در بریتانیا فرکانس شیوع ویروس PAR4 به صورت ۳ مورد از ۱۰ مورد (۳۰ درصد) از بیماران مبتلا به هپاتیت C که معتاد تزریقی هم بودند و هیچ یک از ۸ موردی که مبتلا به هپاتیت C بوده اما معتاد تزریقی نبودند، گزارش شد که این میزان در میان بیماران HIV مثبت در آمریکا ۶ درصد گزارش شد(۱۴). در ایتالیا حضور PARV4 در مغز استخوان ۳۵ بیمار مبتلا به ایدز بررسی شد که DNA ویروس در ۱۸ مورد (۴۰ درصد) از آنها مشاهده شدکه از این تعداد، ۱۱ نفر به هپاتیت C هم مبتلا بودند(۱۶).

طی مطالعات انجام شده در کشورهای آسیایی مانند چین نیز، شیوع ۳۳ درصدی در میان مبتلایان به هپاتیت C و شیوع ۴۱ درصدی در میان مبتلایان به هپاتیت B برای این ویروس گزارش شد که این میزان بالاترین شیوع را در مقایسه با مطالعات مشابه در کشورهای اروپایی و آمریکایی و هم‌چنین دیگر کشورهای آسیایی مانند تایلند(با شیوع۷/۹۵ درصد) را نشان داد(۵) (۱۷). از طرفی در جدیدترین مطالعات منتشر شده در سال ۲۰۱۵، در مطالعه‌ای بر روی مادران و فرزندان مبتلا به عفونت HIV در کشورهای جنوب آفریقا، بر خلاف مثبت بودن تعدادی از نمونه‌ها بر اساس تست‌های سرولوژی، DNA ویروس PARV4 در هیچ یک از نمونه‌های خونی ۹۰ کودک مبتلا به HIV، ۲۴ نفر از اعضای خانواده‌های آن‌ها که HIV منفی بودند و هم‌چنین ۳۴ مادر مبتلا به HIV، مشاهده نشد(۱۸). هم‌چنین در دو مطالعه دیگر منتشر شده در همان سال در دانمارک، DNA ویروس PARV4 در هیچ یک از ۶۰۶ نمونه‌ی سرمی شامل ۲۲۸ مادر، ۱۷۶ نوزاد تازه متولد شده و ۲۰۲ کودک ۱۲ ماهه و هم‌چنین در هیچ یک از ۱۶ کودک مبتلا به ویروس HIV مشاهده نشد(۱۹) (۲۰). از جمله محدودیت‌های این پروژه، تعداد محدود نمونه‌های تازه‌ی در دسترس بود، پیشنهاد می‌شود که مطالعات بعدی بر روی تعداد بیش‌تری از نمونه‌های تازه استخراج شده انجام شود. در نهایت می‌توان گفت که ویروس PARV4 در میان جمعیت‌های ایرانی نادر بوده و مطالعات بیش‌تری جهت بررسی اپیدمیولوژِی و علائم کلینیکال این ویروس تازه شناخته شده، لازم است. هم‌چنین پیشنهاد می‌شود که شیوع این ویروس در همزمانی با دیگر عفونت‌های ویروسی، مانند هپاتیت B و هم‌چنین HIV با تعداد نمونه‌های بیش‌تر بررسی شود.

## تشکر و قدردانی

در انتها از بیماران مبتلا به هپاتیت C و افراد سالمی که در این مطالعه با ما همکاری کردند و هم‌چنین از مسئولین مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی که تمامی هزینه‌های این پروژه را بر عهده داشتند، کمال تشکر را داریم. این مقاله حاصل پژوهش در پروژه پایان‌نامه با عنوان "بررسی فراوانی عفونت پاروویروس ۴ در افراد دچار عفونت ویروسی هپاتیت C" می‌باشد.

## منابع

1.Fryer JF, Kapoor A, Minor PD, Delwart E, Baylis SA. Novel parvovirus and related variant in human plasma. Emerg Infect Dis. 2006;12(1):151-4.

2.Fields BN, Knipe DM, Howley PM. Fields virology. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

3.Väisänen E, Lahtinen A, Eis-Hübinger A, Lappalainen M, Hedman K, Söderlund-Venermo M. A two-step real-time PCR assay for quantitation and genotyping of human parvovirus 4. Journal of virological methods. 2014;195:106-11.

4.Chen M-Y, Yang S-J, Hung C-C. Placental transmission of human parvovirus 4 in newborns with hydrops, Taiwan. Emerging infectious diseases. 2011;17(10):1954.

5.Fryer J. Parvoviruses PARV4/5 in hepatitis C virus-infected persons (vol 13, pg 175, 2007).

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 16:36 +0430 on Thursday May 24th 2018

EMERGING INFECTIOUS DISEASES. 2007;13(3):522.-

6.Drexler JF, Reber U, Muth D, Herzog P, Annan A, Ebach F, et al. Human parvovirus 4 in nasal and fecal specimens from children, Ghana. Emerging infectious diseases. 2012;18(10):1650.

7.Szelei J, Liu K, Li Y, Fernandes S ,Tijssen P. Parvovirus 4–like virus in blood products. Emerging infectious diseases. 2010;16(3):561.

8.Matthews PC, Malik A, Simmons R, Sharp C, Simmonds P, Klenerman P. PARV4: an emerging tetraparvovirus. PLoS Pathog. 2014;10(5):e1004036.

9.Norja P, Hedman L, Kantola K, Kemppainen K, Suvilehto J, Pitkäranta A, et al. Occurrence of human bocaviruses and parvovirus 4 in solid tissues. Journal of medical virology. 2012;84(8):1267-73.

10.Manning A, Russell V, Eastick K, Leadbetter G, Hallam N, Templeton K ,et al. Epidemiological profile and clinical associations of human bocavirus and other human parvoviruses. Journal of Infectious Diseases. 2006;194(9):1283-90.

11.Panning M, Kobbe R, Vollbach S, Drexler JF, Adjei S, Adjei O, et al. Novel human parvovirus ۴genotype 3 in infants, Ghana. Emerging infectious diseases. 2010;16(7):1143.

12.May J, Drexler JF, Reber U, Sarpong N, Adjei O, Panning M, et al. Human parvovirus 4 viremia in young children, Ghana. Emerging infectious diseases. 2012;18(10):1690.

13.Benjamin LA, Lewthwaite P, Vasanthapuram R, Zhao G, Sharp C, Simmonds P, et al. Human parvovirus 4 as potential cause of encephalitis in children, India. 2011.

14.Ma YY, Guo Y, Zhao X, Wang Z, Lv MM, Yan QP, et al. Human parvovirus PARV4 in plasma pools of Chinese origin. Vox sanguinis. 2012;103(3):183-5.

15.Maple PA, Beard S, Parry RP, Brown KE. Testing UK blood donors for exposure to human parvovirus 4 using a time-resolved fluorescence immunoassay to screen sera and Western blot to confirm reactive samples. Transfusion. 2013;53(10pt2):2575-84.

16.Longhi E, Bestetti G, Acquaviva V, Foschi A, Piolini R, Meroni L, et al. Human parvovirus 4 in the bone marrow of Italian patients with AIDS. Aids. 2007;21(11):1481-3.

17.Lurcharchaiwong W, Chieochansin T , Payungporn S, Theamboonlers A, Poovorawan Y. Parvovirus 4 (PARV4) in serum of intravenous drug users and blood donors. Infection. 2008;36(5):488-91.

18.Matthews PC, Sharp CP, Malik A, Gregory WF, Adland E, Jooste P, et al. Human parvovirus 4 infection among mothers and children in South Africa. Emerging infectious diseases. 2015;21(4):713.

19.von Linstow M-L, Rosenfeldt V, Lindberg E, Jensen L, Hedman L, Li X, et al. Absence of novel human parvovirus (PARV4) in Danish mothers and children. Journal of Clinical Virology. 2015;65:23-5.

20.Rosenfeldt V, Norja P, Lindberg E, Jensen L, Hedman L, Väisänen E, et al. Low Prevalence of Parvovirus 4 in HIV Infected Children in Denmark. The Pediatric infectious disease journal. 2014.